TOME XXXIX N° 3 JUILLET-SEPTEMBRE 1960

SOMMAIRE

L. Hirth : Contribution à l'étude de quelques problèmes posés par la multiplication du virus de la Mosaïque du tabac (*fin*), p. 133. — L. Guyot, G. Malençon et M. Massenot : Troisième contribution à l'étude des Ustilaginales parasites du Bassin méditerranéen occidental (Afrique du Nord et Péninsule ibérique), p. 165. — J. d'Aguilar : Note préliminaire sur la biologie de *Suillia lurida* meig. (*Dipt. Helomyzidae*), p. 173.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE QUELQUES PROBLÈMES POSÉS PAR LA MULTIPLICATION DU VIRUS DE LA MOSAIQUE DU TABAC

PAR

L. Hirth

TROISIÈME PARTIE

ÉTUDE DES PROBLÈMES POSÉS PAR LA VIRULENCE DU V.M.T. ET SES VARIATIONS

INTRODUCTION

L'ensemble du travail réalisé a montré que le V.M.T. se multipliait beaucoup moins dans les cultures de tissus que dans les feuilles.

Cette différence de comportement d'une même souche de virus, lorsque l'état physiologique des cellules hôtes est différent, amène tout naturellement à envisager la possibilité de modifications affectant la souche d'origine. Il faut alors caractériser les différences obtenues et voir s'il s'agit d'une variation, d'une mutation ou d'une sélection portant sur une population de particules. Il existe, pour mettre en évidence les variations ou mutations possibles d'une souche plusieurs critères théoriquement acceptables.

L'étude des spectres dans l'U.V., malgré les efforts récents de Aach (1958) pour apporter quelques précisions, ne permet pas d'affirmer qu'une souche est mutante ou variante par rapport à une autre.

Par ailleurs, de Fremery et Knight (1955) ont montré que les variations de la composition en acides aminés des diverses souches connues de V.M.T., n'étaient pas un test sûr pour affirmer qu'on avait à faire à un mutant.

En effet, si la souche du Plantain (qui contient de l'histidine et de la méthionine) constitue une heureuse exception, il n'est pas possible de mettre en évidence des différences dans les autres cas. (Ex. : souche masquée et souche type du V.M.T., Knight, 1954).

Enfin, les expériences récentes de certains auteurs (Frankel-Conrat et Williams, 1955; Gierer et Schramm, 1956; Tung Yue

Wang et Commoner, 1956) ont attiré l'attention sur le rôle joué par la fraction nuléique dans les processus d'infection, elles n'ont pas permis de relier les différences de virulence constatées pour diverses souches aux variations de la composition de leurs acides ribonucléiques en bases puriques et pyrimidiques (Cooper et Loring, 1954; de Fremery et Knight, 1955; Basler et Commoner, 1956). L'analyse quantitative des constituants du virus risquait donc de ne pas donner les renseignements escomptés.

Par ailleurs, l'existence de réactions immunologiques croisées entre les diverses souches de V.M.T. ne permet pas d'espérer de la sérologie des indications valables.

Nous avons alors entrepris de vérifier si les symptômes induits par les deux types de virus, tant sur *N. glutinosa* que sur *N. tabacum* étaient les mêmes et si leur virulence était identique. Nous avons également pensé que la microscopie électronique pouvait nous fournir d'utiles renseignements. Enfin, dans le cas où la virulence s'avérait différente pour les deux types de virus envisagés, les problèmes relatifs à son origine et aux causes de ses modifications seraient abordés.

Chapitre premier

VIRULENCE COMPARÉE DU V.M.T. DES CULTURES DE TISSUS ET DES FEUILLES

Des essais effectués à la fois sur *N. glutinosa* et sur *N. tabacum* en utilisant du V.M.T. extrait des cultures et des feuilles n'ont pas montré de différences dans la symptomatologie; nous avons alors étudié la virulence comparée des souches.

Méthode : 10 g de cultures de tissus accoutumés de Tabac; ayant poussé durant trois mois sur un milieu de base classique dans les conditions habituelles, sont prélevés. Ils sont déposés au conservateur en même temps que 10 g de feuilles provenant de Tabacs virosés depuis trois mois. Le virus est extrait après broyage au mortier, chauffage à 60 °C et centrifugations alternées à haute et basse vitesse. Les culots sont repris par un même volume d'eau distillée (50 ml) et les lectures effectuées au spectrophotomètre. Finalement, les 10 g de culture donnent 2 350 µg d'équivalent de V.M.T., soit 135 µg par gramme de poids frais, et les feuilles 17 250 µg de V.M.T. (1 725 µg par gramme de poids frais), soit sept fois et demie de plus que dans les cultures. Ce rapport est le plus bas que nous ayons obtenu, mais l'expérience a été réalisée au mois de novembre et les Tabacs étaient particulièrement pauvres en virus.

La suspension de V.M.T. des feuilles est diluée sept fois et demie et sa concentration vérifiée au spectrophotomètre; on constate alors

que sa densité optique est très voisine de la suspension provenant de cultures (en réalité, il y avait une différence inférieure à 1 %). Les suspensions sont alors inoculées par demi-feuilles à *N. glutinosa* et à *Datura stramonium* suivant la technique décrite dans la première partie. Le tableau XXVI résume les résultats obtenus.

TABLEAU XXVI

Comparaison de la virulence du virus extrait de disques de feuilles et du virus extrait des cultures

NATURE DE L'INOCULUM	Nombre de lésions par demi-feuille (moyenne de 12 demi-feuilles) *N. glutinosa*	*D. stramonium*
Virus des cultures	19	56
Virus des feuilles	31	72
β = Nombre de lésions : des feuilles/des cultures	1,6	1,29
Écart	+ 0,6	+ 0,29
CONTROLE : *virus des cultures :*		
Partie droite des feuilles	14	52
Partie gauche des feuilles	15	57
β = Nombre de lésions : partie droite/partie gauche	0,94	0,92
Écart	± 0,06	± 0,08
CONTROLE : *virus des feuilles :*		
Partie droite des feuilles	26	84
Partie gauche des feuilles	27	78
β = Nombre de lésions : partie droite/partie gauche	0,96	1,08
Écart	± 0,04	± 0,08

On voit que les valeurs de β pour *D. stramonium* et *N. glutinosa* sont très voisines :

La dispersion n'est pas plus grande pour le virus des cultures que pour celui des feuilles et leur comparaison peut être valablement menée par la technique des lésions locales.

De plus, on remarque que les différences obtenues entre le virus des feuilles et celui des cultures sont importantes; analysées statistiquement elles se sont montrées significatives. A densité optique égale, les deux suspensions ont des virulences très sensiblement différentes.

Cette différence de virulence peut être imputable à la présence de la substance X signalée dans les suspensions provenant des cultures de tissus; mais, dans nos conditions, la technique des lésions locales ne permet pas de mettre en évidence avec certitude, des différences inférieures à 40 %. Or, cette dernière est très sensiblement supérieure à la perturbation introduite par la substance X dans l'évaluation du V.M.T. des cultures.

D'ailleurs, dans une expérience de contrôle, la concentration de la suspension du V.M.T. des feuilles a été ramenée à une valeur spectro-

photométrique inférieure de 40 % à celle des cultures; le nombre des lésions induites par le virus des feuilles a toujours été supérieur à celui provoqué par le V.M.T. des cultures. Il est certain dans ces conditions que la différence de virulence constatée est imputable aux propriétés particulières des suspensions provenant des cultures.

Cette différence de comportement pour des virus provenant d'une même souche d'origine, peut être due :

1° Soit à la présence dans la suspension de V.M.T. des cultures de la substance ultra-centrifugeable, pouvant provoquer une inhibition d'infection, c'est-à-dire une inhibition de la pénétration du V.M.T. dans les cellules de *N. glutinosa;*

2° Soit à des modifications plus ou moins réversibles intervenant au niveau de la fraction protéique, ou au niveau de la fraction nucléique;

3° Soit à une structure différente du V.M.T. des cultures par rapport à celle du virus des feuilles, ce qui pose le problème de la structure du V.M.T. et de son importance dans le pouvoir pathogène.

Chapitre II

LA VIRULENCE DU V.M.T. ET LE PROBLÈME DES INHIBITIONS D'INFECTION

On sait depuis longtemps, que le pouvoir infectieux des virus des végétaux et notamment du V.M.T. peut être modifié par des substances diverses. Bawden (1954) a fait de la question une excellente revue et nous ne retiendrons des nombreux travaux effectués dans ce domaine, que ceux qui présentent des rapports directs avec les questions que nous étudions.

Ces substances ou ces extraits peuvent agir soit en transformant le virus, soit en modifiant la pénétration du virus ou la sensibilité des cellules hôtes à l'infection.

Il n'est pas toujours facile de savoir dans quelle mesure une substance agit directement sur le virus, sur la pénétration de celui-ci ou sur la plante hôte. Toutefois, Stanley (1934), Bawden et Pirie (1936), Hill et Vinson (1938), Kleczkowski (1944) avec la trypsine, Loring (1942) et Kleczkowski (1944) avec la ribonucléase, Kassanis et Kleczkowski (1948) avec la glycoprotéine extraite de *Phytolacca decandra* ont montré que ces substances, inhibitrices du V.M.T. ou d'autres virus, formaient souvent des combinaisons détectables (généralement insolubles) avec le V.M.T., bloquant ainsi certains groupes actifs de la particule virulente. Nous-mêmes (1951) avons constaté que les extraits sains et tumoraux de *Pelargonium zonale* formaient à un pH compris entre 4,5 et 7,0 un précipité insoluble lié à une inhibition de la virulence du V.M.T. : chaque fois que nous obtiendrons

un tel complexe, nous admettrons que nous avons affaire à une combinaison virus-substance interférente. Il est d'ailleurs possible qu'un tel complexe agisse probablement à la fois sur le V.M.T. et sur la plante hôte : c'est ce qui a été mis en évidence par KASSANIS et KLECZKOWSKI (1948) ainsi que par GENDRON et KASSANIS (1954). Ces derniers auteurs ont montré que le pouvoir inhibiteur d'une substance déterminée dépendait de la nature de la plante sur laquelle l'essai était conduit. Le problème est donc complexe, d'autant plus que BENDA (1956) a récemment mis en évidence que l'action inhibitrice exercée par des jus d'Épinards était la résultante de deux actions contraires, l'une inhibitrice et l'autre exaltatrice : la première l'emportant très sensiblement sur la seconde. Dans l'ensemble, nous avons admis que lorsque la virulence était modifiée par une substance ne formant pas avec le virus de complexe insoluble, on avait affaire à une inhibition ou à une exaltation d'infection.

Dans ces conditions, on peut se demander si la différence de virulence constatée entre le virus des feuilles et celui des cultures n'est pas due à la présence de la substance ultra-centrifugeable signalée, cette dernière ne formant pas de complexe insoluble avec le virus pourrait exercer éventuellement une inhibition d'infection.

A. Action d'une substance ultra-centrifugeable (substance X) isolée de cultures de Tabacs non virosés sur la virulence du V.M.T.

Des expériences ont été réalisées dans le but de connaître l'action de la substance X sur le V.M.T.

Méthode expérimentale : 90 g de cultures de tissus accoutumés non virosés poussant dans les conditions habituelles ont été traités comme s'ils contenaient du V.M.T. et la substance X ainsi isolée. On a finalement obtenu 10 ml d'une suspension opalescente ayant au spectrophotomètre, un pouvoir absorbant équivalent à celui de 450 mg de V.M.T. par millilitre.

Parallèlement, une suspension de V.M.T. est obtenue par la technique de purification habituelle à partir de feuilles de Tabacs virosés et sa concentration est ramenée à 54 µg de V.M.T. par millilitre, soit une concentration du même ordre que celles obtenues à partir des cultures de tissus. On additionne alors 2 ml de la suspension de V.M.T. d'un volume de la suspension contenant la substance X et on laisse en contact vingt-quatre heures à la température du laboratoire. On inocule ensuite dans les conditions habituelles des lots de *Nicotiana glutinosa*.

Les résultats obtenus montrent que la substance n'inhibe en rien la virulence du V.M.T. extrait des feuilles, au contraire elle semble favoriser la formation des lésions locales. Ce fait est en soi intéressant car le nombre des substances qui exaltent le développement des lésions

est relativement restreint. De toute manière le pouvoir pathogène du V.M.T. des cultures n'est pas imputable à la substance en question, au contraire, si cette dernière a tendance à exalter la virulence du V.M.T., les différences d'activité entre le virus des feuilles et celui des cultures sont encore plus grandes qu'il n'est apparu au cours de la première expérience.

B. Tentative d'explication du mode d'action de la substance X par comparaison avec l'action de certains polyosides ne formant pas de complexe avec le V.M.T.

La substance X étudiée ne peut être obtenue en quantité suffisante pour une étude systématique. Nous avons pensé utile de comparer son activité à celle de substances ne formant pas de complexe avec le V.M.T.; certains polyosides ont été étudiés. Ce choix a été dicté par le fait que la substance X ne contient pas de P, présente de faibles quantités d'N, a un spectre d'absorption ne présentant pas à 2 800 Å le pic caractéristique des protéines et donne des solutions opalescentes. Il n'est donc pas impossible qu'il s'agisse d'un polyoside. D'autre part, Takahashi (1942) a montré qu'un polysaccharide extrait de la levure de bière exerçait une action inhibitrice sur l'obtention de lésions locales, sans donner de complexes insolubles. L'amidon, soluble, l'inuline, le glycogène (ces derniers ont été aimablement fournis par le Service des fermentations de l'Institut Pasteur et étaient d'une grande pureté) et un polyoside extrait de la capsule d'une levure pathogène pour l'homme, *Torulopsis neoformans* ont été essayés. Cette dernière substance a été préparée et purifiée par notre collègue E. Drouhet, à partir de cultures de levures provenant d'une souche isolée d'un cas humain.

Une suspension de virus des feuilles, purifiée chimiquement et contenant 10^{-3} g/ml de V.M.T. est mise en contact avec un volume égal d'une suspension de chacune des substances utilisées, aux concentrations indiquées dans le tableau XXVII, le témoin est constitué par

Tableau XXVII

Influence des divers polyosides sur l'obtention des lésions sur *Nicotiana glutinosa*

Nature et concentration des polyosides utilisés	Nombre de lésions pour 12 demi-feuilles			
	Virus non dilué		Virus dilué au 1/5	
	Traité	Témoin	Traité	Témoin
Amidon à 5 °/₀	125	118	55	48
Amidon à 5 °/₀₀	127	140	45	44
Inuline à 5 °/₀	113	121	39	41
Inuline à 5 °/₀₀	220	222	166	167
Glycogène à 5 °/₀	46	103	39	85
Glycogène à 5 °/₀₀	197	230	171	181
Polyoside de *T. neoformans* à 5 °/₀₀	51	105	30	62

la suspension de V.M.T. additionnée d'un égal volume d'eau bidistillée. Les suspensions ainsi préparées sont laissées quatre heures en contact. Ces suspensions, traités et témoins, sont inoculées à *N. glutinosa* suivant la technique habituelle et les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XXVII.

Seuls, le glycogène à la concentration de 5 % et le polyoside de *T. neoformans* à celle de 5 °/₀₀ ont donné des différences significatives. Ce polyoside n'a pu être employé à des concentrations supérieures à 5 °/₀₀ à cause de sa faible solubilité et de la grande viscosité des suspensions. La forte activité du polyoside a été confirmée en effectuant un contrôle sur des suspensions de V.M.T. diluées. Le tableau XXVIII consigne les résultats obtenus.

TABLEAU XXVIII

Action du polyoside de *Torulopsis neoformans* sur la formation des lésions locales

INOCULUM	Nombre de lésions par demi-feuille (moyenne de 12 demi-feuilles)		
	Traité (*)	Témoin	$\beta m = \frac{V.\ tr.}{V.\ tém.}$
Virus dilué au 1/5	58	112	0,52
Virus dilué au 1/10	24	58	0,41

(*) Virus + polyoside 5 °/₀₀.

En considérant le pouvoir inhibiteur du polyoside extrait de *T. neoformans*, il a paru intéressant de vérifier si, en absence de tout complexe polyoside-virus insoluble, ce dernier n'était pas cependant dénaturé, et si, dans ce cas, il ne s'agirait pas de tout autre chose que d'une inhibition d'infection. Or, si la fraction protéique du V.M.T. est dénaturée, des modifications de son pouvoir antigénique peuvent être observées. Nous avons cherché à mettre en évidence ces modifications éventuelles. Des lots de 6 lapins chacun sont constitués, des lots témoins sont inoculés suivant la technique déjà décrite avec des suspensions de V.M.T. à 10^{-3} g/ml, additionnées d'un volume d'eau distillée. Les lots traités sont inoculés avec des suspensions de virus de même concentration, additionnées d'un volume d'une solution du polyoside de *T. neoformans* à 5 °/₀₀, enfin, une troisième série de lots est inoculée avec une solution de polyoside à 5 °/₀₀ additionnée d'un volume d'eau distillée. La récolte des sérums est faite dans les conditions habituelles. On a effectué des dilutions de sérum pour obtenir finalement une concentration en anticorps suffisamment faible pour ne plus avoir de précipitation après vingt-quatre heures, quand on ajoute un égal volume d'une suspension de V.M.T. à 10^{-3} g/ml.

Les résultats obtenus ont montré que :

— le polyoside de *T. neoformans* est entièrement dépourvu de pouvoir antigénique;

— les sérums des lapins traités avec le virus seul ou avec le virus additionné du polyoside sont pratiquement aussi riches en anticorps.

Au cours de plusieurs contrôles nous avons acquis la conviction que les différences constatées dans la richesse en anticorps des sérums récoltés dépendaient uniquement des réactions individuelles des lapins utilisés.

On déduit des résultats précédents, que le pouvoir antigénique du V.M.T. n'est pas modifié par la présence du polyoside et que l'inhibition qu'il provoque est bien une inhibition d'infection. Il est peu probable en effet, que la fraction A.R.N. du virus soit affectée par le polyoside.

En conclusion :

1° Bawden et Pirie (1957) ont montré qu'il existait dans les feuilles de Tabacs infectés par le virus de la nécrose et dans les Tabacs sains des substances pouvant former avec le virus des complexes inhibiteurs de la virulence, mais ces substances semblent être beaucoup plus actives lorsqu'elles se forment dans les Tabacs virosés que lorsqu'on les extrait des Tabacs sains. Il n'est donc pas certain que l'activité de cette substance X signalée, soit identique *in vitro* et dans les cultures virosées. Toutefois, la différence de virulence constatée entre le V.M.T. des feuilles et celui des cultures ne semble pas être imputable à cette substance ultra-centrifugeable.

2° On sait que de nombreuses substances additionnées aux suspensions de virus étudiées, favorisent l'obtention des lésions locales (Yarwood, Revue générale, 1957), mais, à notre connaissance, la substance ultra-centrifugeable que nous signalons semble être le premier composé d'apparence organique ayant des propriétés de ce genre.

3° La moindre virulence du V.M.T. des cultures n'étant pas due à une inhibition d'infection, les différences observées pouvaient provenir de modifications dans la constitution chimique ou dans la structure du virus. Deux problèmes nous ont alors préoccupé :

a) Nécessité de l'intégrité des deux fractions du V.M.T. pour la manifestation du pouvoir pathogène;

b) Structure du V.M.T., ses variations et ses rapports avec les modifications du pouvoir pathogène.

Chapitre III

POUVOIR PATHOGÈNE ET INTÉGRITÉ DES FRACTIONS PROTÉIQUE ET RIBONUCLÉIQUE DU V.M.T.

Nos recherches ont été exclusivement effectuées sur le V.M.T. extrait des feuilles de Tabac. Il est évidemment regrettable que nous n'ayons pu les effectuer également sur le V.M.T. des cultures, mais ce sont des questions matérielles qui nous en ont empêché. En effet, la très faible teneur des cultures en V.M.T., les pertes considérables qui accompagnent toujours une purification, la nécessité d'avoir des suspensions très concentrées, nous auraient obligé à envisager la production de cultures virosées sur une échelle que les moyens, pourtant remarquables, mis à notre disposition, ne nous permettaient pas de réaliser.

A. L'intégrité de la fraction protéique et le pouvoir pathogène du V.M.T.

Pour aborder ce problème nous avons utilisé des substances formant des complexes insolubles avec la fraction protéique du V.M.T. à savoir les tannins.

Tableau XXIX

Influence de divers types de tannins sur la virulence du V.M.T.

NATURE DES TANNINS UTILISÉS	Nombre de lésions par demi-feuille (moyenne de 12 demi-feuilles) Témoins	Traités (*)
Tannin du thé à 1 %	54	30
Tannin du thé à 0,5 %	65	36
Tannin du marronnier à 1 %	65	45
Tannin du marronnier à 0,5 %	70	60
Tannin de l'aubépine à 1 %	70	45
Tannin de l'aubépine à 0,5 %	74	60
Acide tannique à 1 %	67	1
Acide tannique à 0,5 %	42	5

(*) Virus + solution tannique.

Le tableau XXX précise l'action exercée sur le V.M.T. par l'acide tannique.

Les méthodes utilisées et les résultats obtenus ont été exposés dans un mémoire (1951).

Nous exposerons ici les grandes lignes de nos expériences et les conclusions auxquelles, elles nous ont conduit.

L'étude du *pouvoir inhibiteur de quelques tannins galliques et pyrocatéchique* est résumée dans les tableaux XXIX et XXX.

TABLEAU XXX

Influence de la concentration en acide tannique sur la virulence du V.M.T. à 10^{-3} g/ml

CONCENTRATIONS EN ACIDE TANNIQUE	Nombre de lésions par demi-feuille (moyenne de 12 demi-feuilles) Traité (*) virus + acide tannique	Témoin virus + H_2O	Virulence relative par rapport au témoin
1 %	1	56	0,0178
0,5 %	12	51	0,234
0,25 %	40	55	0,72
0,1 %	73	77	0,94
0,05 %	85	83	1,01
0,025 %	68	65	1,02
0,01 %	66	67	1

On voit que l'inhibition exercée par l'acide tannique est de loin la plus forte. Le fait que l'intensité du précipité obtenu au moment de l'adjonction de solutions tanniques à la suspension de V.M.T. est moins intense avec les tannins pyrocatéchiques qu'avec les tannins galliques, constitue peut-être une explication.

L'acide tannique comportant dans sa molécule de l'acide gallique, l'action de l'acide gallique sur le V.M.T. a été étudiée dans les conditions habituelles. Nous avons vérifié que l'acide gallique n'avait pas d'action sur le V.M.T. et ne donnait naissance à aucun complexe insoluble avec ce dernier. La formation du complexe insoluble tannin-protéine pourrait donc davantage dépendre du degré de polymérisation de la molécule tannique élémentaire, que des propriétés spécifiques de ses constituants.

Par ailleurs nous avons pu montrer :

a) Que l'acide tannique ne formait aucun complexe insoluble avec l'A.R.N. de levure;

b) Que le complexe tannin-protéine pouvait être dissocié à des pH élevés;

c) Que le complexe tannin V.M.T. pouvait lui aussi être dissocié à pH 7-9, cette dissociation s'accompagnant d'une récupération partielle du pouvoir pathogène (cf. fig. 33).

Les faits mis en évidence, dont la plupart ont été confirmés par THRESH (1956), conduisent à penser que toute altération de la fraction protéique du V.M.T. est susceptible de provoquer une modification importante du pouvoir pathogène du virus dans les conditions habituelles.

B. L'intégrité de la fraction Ribonucléique et le pouvoir pathogène du V.M.T.

Les acridines sont connues pour leur pouvoir bactéricide, elles ont fait depuis, l'objet de nombreuses études tant sur le plan chimique que biologique. Albert (1951) a publié une étude systématique de ces substances. Illwain (1941) a montré par ailleurs que l'action antibactérienne des acridines pouvait être levée par adjonction au

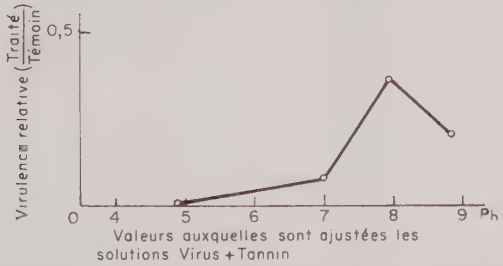


Fig. 33 : Réversibilité de l'action de l'acide tannique sur le V.M.T. sous l'influence des variations de pH.

milieu d'A.R.N. de levure : les acridines se combinant aux A.R.N. et formant avec eux des complexes insolubles. D'autre part, Ephrussi et *al.* (1949 *a* et *b*) ont montré que l'acriflavine était à des concentrations convenables, capables d'induire des mutations dans des cultures de *Sacharomyces cerevisiae*. L'action de la proflavine sur les bactériophages est bien connue (Foster, 1948).

Méthode expérimentale : l'acriflavine (acridine relativement facile à se procurer) est un mélange d'euflavine et de proflavine. Elle a toujours été employée au 1/125. Les essais préliminaires entrepris ont montré que des concentrations inférieures étaient sans effet; des concentrations plus élevées sont sujettes à caution : l'acriflavine étant alors peu soluble. Les variations de la virulence sont étudiées par la technique classique sur *N. glutinosa.*

Dans ces conditions, on observe une inhibition du nombre des lésions locales qui est beaucoup plus intense à pH 7 qu'à pH 3.

L'expérience suivante permet d'avancer une explication : si l'on met en contact, volume à volume, une solution d'acriflavine au 1/125 et une suspension de V.M.T. à 10^{-3} g/ml, on constate qu'à pH 3,0 il apparaît un louche peu important. Ce louche provient sans doute de la précipitation du V.M.T. qui est alors à un pH très voisin de son point isoélectrique. Par contre, à pH 7 et au-delà, il se forme un précipité très net; il est probable que la fraction nucléique du virus forme un complexe avec l'acriflavine et entraîne avec elle la fraction

protéique. Nous avons par ailleurs vérifié que la sérum-albumine de cheval ne donnait pas de précipitation avec l'acriflavine à quelque pH que ce soit.

Dans une seconde série d'expériences, nous avons vérifié que la diminution du nombre des lésions n'était pas due à une action toxique exercée par l'acriflavine sur les feuilles de *N. glutinosa* au moment de l'inoculation. Les deux côtés des feuilles de trois lots de *N. glutinosa* sont inoculés avec une suspension de V.M.T. à 10^{-3} g/ml. Une moitié de chacune des feuilles est ensuite frottée avec une suspension d'acriflavine au 1/125 et, suivant les lots, à des temps variables après l'inoculation du virus.

Tableau XXXI

Influence de l'acriflavine au 1/125
sur la formation des lésions induites sur *N. glutinosa*
par une suspension de V.M.T. à 10^{-3} g/ml

Temps entre l'inoculation des feuilles par le V.M.T. et leur traitement par l'acriflavine	Nombre de lésions par demi-feuille (moyenne de 12 demi-feuilles)		
	Témoin	Traité	β (*)
0	144	62	0,430
90 minutes	120	69	0,575
24 heures	143	151	1,055

(*) β Nombre de lésions des traités/nombre de lésions des témoins.

Le tableau XXXI résume les résultats. On voit que l'inhibition de la virulence au temps 0 est sensiblement plus faible que lorsque l'on inocule le complexe virus-acriflavine. Au bout de quatre-vingt-dix minutes on constate que l'inhibition est encore importante, il est probable qu'un grand nombre de particules de virus n'a pas encore pénétré, ou que les cellules dans lesquelles elles se trouvent sont détruites ou lésées par l'acriflavine. Après vingt-quatre heures, cette dernière est sans action, ce qui indique une activité en relation avec le contact qu'elle peut avoir avec les particules virulentes et qui ne semble pas s'exercer sur les cellules de la plante hôte. D'autre part, elle n'a pas d'action nécrosante pouvant être confondue avec des lésions locales.

Dans une autre série d'expériences, l'influence de l'acriflavine sur la multiplication du V.M.T. en disques de feuilles en survie à la lumière dans du Knop au demi, a été étudiée. La concentration choisie était de 10^{-5} (les concentrations supérieures se montrant très rapidement toxiques pour les feuilles), nous n'avons obtenu aucune différence significative entre les traités et les témoins. Reprenant ce travail, sous un autre angle, nous avons étudié l'influence de l'acriflavine et de la proflavine sur la formation des lésions locales chez des feuilles de *N. glutinosa* en survie.

Méthode expérimentale : des feuilles de *N. glutinosa* sont inoculées *in situ* avec une suspension du V.M.T. à 10^{-3} g/ml. Vingt-quatre heures après, chaque feuille est partagée en deux, au niveau de la nervure médiane et l'une des deux parties est immergée dans le milieu de survie additionné d'acriflavine ou de proflavine à 10^{-6} et l'autre dans le milieu témoin.

Dans ces conditions la proflavine n'exerce aucune action sur la formation des lésions, tandis que l'acriflavine exerce une action inhibitrice nette, surtout à l'obscurité; l'acriflavine étant un mélange de proflavine et d'euflavine, il est logique de penser que l'action inhibitrice de l'acriflavine est due à l'euflavine. Ainsi, l'euflavine exerce son action sur la formation des lésions locales.

En résumé nous avons mis en évidence :

1° Que l'acriflavine inhibe la virulence du V.M.T. grâce à la formation d'un complexe acriflavine-acide nucléique qui a lieu aux pH neutres ou basiques et se dissocie aux pH acides. Ces phénomènes sont conformes à ceux observés par Markowitch (1953) dans des conditions et sur un matériel différents. La formation et la dissociation du complexe considéré s'effectue dans des conditions de pH inverses de celles contrôlant le complexe tannin-virus. Si nous admettons avec Markowitch (1953) que ce type de combinaison est dû au jeu de forces électrostatiques de signe opposé, il est permis de penser que la fraction A.R.N. et la partie protéique du virus sont sans doute unies par des forces de ce type et non par des liaisons de type chimique.

2° Qu'à des concentrations voisines, l'acriflavine a un pouvoir inhibiteur sensiblement plus discret que les tannins : ce fait peut paraître surprenant si l'on se rappelle que l'acriflavine a un pouvoir bactéricide important à des concentration de l'ordre de 10^{-5} et que la quantité d'A.R.N. du V.M.T. ne représente que 5 à 6 % de la masse totale du V.M.T. Cette observation est cependant en conformité avec les travaux récents de nombreux auteurs sur la structure du V.M.T. Franklin, 1955, 1956, 1957; Hart, 1955, etc. ont montré que le V.M.T. a une structure hélicoïdale, la fraction ribonucléique étant insérée à l'intérieur du manchon protéique. La nécessité d'employer de fortes concentrations d'acriflavine pour obtenir une inhibition significative de la virulence confirme donc que la fraction protéique joue un rôle protecteur par rapport à la fraction ribonucléique.

3° Que l'acriflavine a une action sur la formation des lésions locales sur des feuilles de *N. glutinosa* en survie, alors qu'elle n'en a pas sur la multiplication du V.M.T. en disques de feuilles. L'explication de ce phénomène ne nous est pas apparue.

En conclusion : de l'étude de ce qui précède, il ressort que la différence de virulence constatée entre les V.M.T. des cultures et celui des feuilles n'est pas due à une inhibition d'infection, ni sans doute à

une modification de l'intégrité des fractions protéiques et nucléiques du V.M.T., résultant dans les suspensions de V.M.T. des cultures, de la formation de complexes insolubles. Il reste à comparer les structures des deux types de virus.

Chapitre IV

STRUCTURES COMPARÉES DU V.M.T. DES CULTURES ET DU V.M.T. DES FEUILLES

Microscopie électronique des deux types de virus

Elle a été conduite à l'aide du microscope électronique Siemens Elmiscop I.

Méthode expérimentale : 20 g de cultures de tissus accoutumés virosés ont été congelés puis broyés au mortier en présence d'eau. Le jus obtenu a été ensuite purifié en utilisant la méthode chimique décrite (1re partie, chapitre II). La dialyse a été soigneusement conduite afin d'éliminer tous les sels qui pourraient gêner la microscopie électronique. Parallèlement, nous avons extrait et purifié le V.M.T. de 20 g de feuilles de Tabac virosées. Les techniques employées ont été rigoureusement les mêmes. Les préparations ont été immédiatement déposées sur les membranes de collodion nécessaires à la microscopie électronique, puis imprégnées au carbone. Il était essentiel que ces opérations soient effectuées aussitôt, car on sait que le vieillissement des suspensions de V.M.T. provoque chez celles-ci le phénomène de l'agrégation (Bawden et Pirie, 1945; Welsch, 1956).

Les photographies ci-contre (fig. 34 et 35) rendent compte des résultats obtenus. On voit que l'aspect général des préparations n'est pas le même. Tout d'abord, les dimensions des particules sont très hétérogènes dans le cas du V.M.T. des cultures (fig. 34) alors qu'elles sont assez homogènes dans le cas de celui des feuilles (fig. 35). D'autre part, la proportion de particules qui dépassent 290 mμ est beaucoup plus grande dans le V.M.T. des cultures que dans celui des feuilles. En somme, le V.M.T. des cultures est au moment même de l'extraction, dans un état d'agrégation net.

Enfin, l'aspect flexueux des particules de V.M.T. des cultures contraste curieusement avec la rigidité des bâtonnets du V.M.T. des feuilles. Tout se passe comme si les particules de V.M.T. des cultures étaient articulées et formées de sous-unités apparemment plus petites que la dimension de 290 mμ admise généralement comme représentant la particule élémentaire du V.M.T.

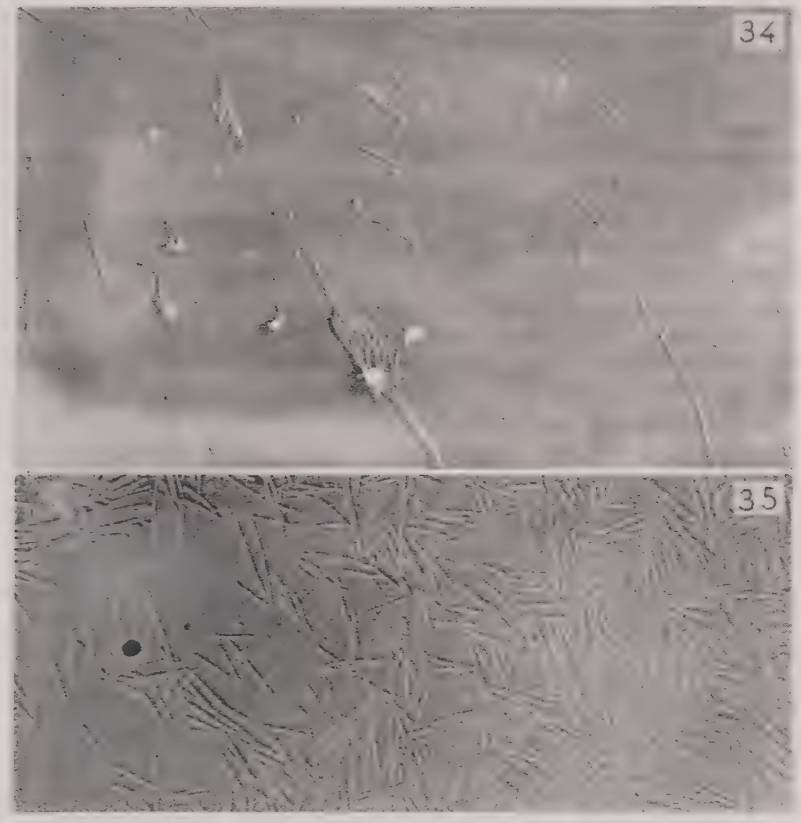


FIG. 34 : Microscopie électronique du V.M.T. des cultures de tissus.
FIG. 35 : Microscopie électronique du V.M.T. des feuilles.

Ainsi, l'origine de la différence de virulence observée pourrait être due à des différences de structure. Les problèmes suivants se posent alors :

1° Quels sont les rapports existant entre la structure et la virulence?

2° Comment peut-on relier les modifications de structure aux modifications de virulence?

Les questions précédentes ont été abordées au cours de recherches entreprises avec J. BASSET et O. CROISSANT au moyen des hautes pressions; recherches qui ont été publiées en 1957 et dont nous nous contenterons ici de rappeler les conclusions :

1° Nous avons confirmé que les particules du V.M.T., pour être virulentes, doivent avoir une longueur voisine de 290 mμ, les particules de longueur inférieure semblant dépourvues de virulence.

2° L'emploi des hautes pressions permet d'aborder le problème de la structure de la particule du V.M.T., sans faire subir à celle-ci d'injures chimiques et en exerçant une action plus puissante et plus facilement contrôlable que dans le cas des ultra-sons (Kausche, Pfankuch et Ruska, 1941; Oster, 1947; Pfankuch et Ruska, 1947). Ces derniers en effet, n'agissent pas directement mais par le truchement de la cavitation et d'autres phénomènes qu'ils provoquent dans le milieu.

On peut admettre que le virus est constitué de sous-unités probablement identiques entre elles et dont les régions d'association sont des points de moindre résistance. Quelles sont les dimensions de chacune de ces sous-unités? Schramm (1947 *a* et *b*) admet que la longueur serait de l'ordre de 42 mμ et représenterait L/6 de la longueur de la particule initiale. Il est certain que les résultats obtenus avec les hautes pressions montrent que la particule L/6 joue un rôle structural

Fig. 36 : Action des pressions sur le V.M.T. *agrégé :*

1 Témoin.
2 Virus pressé à 3 000 kg/cm².
3 — — à 4 000 kg/cm².
4 — — à 14 000 kg/cm².

important et indiscutable, mais l'étude des polygones de fréquences (fig. 38 et 39) obtenus à 9 000 kg cm² permet de voir que la particule élémentaire pourrait être L 12 soit 24 mμ: deux de ces dernières s'associent entre elles, une variété de dimères de 48 mμ prendrait naissance et six d'entre elles s'agrégeant formeraient la particule élémentaire virulente. Ce fragment de 24 mμ qui serait lui-même divisé en 4 fractions de 60 A, a une valeur plus faible quoique voisine de celle trouvée par Bernal et Fankuchen (1941) et admise par Franklin et *al.* (1955, 1956, 1957).

Il ne nous a pas été possible d'indiquer à partir de quelles dimensions les particules sont toutes dépourvues de leur acide nucléique, mais il semble que dès 4 000 kg cm² la pression doit agir en détruisant les liens qui unissent l'acide ribonucléique du virus et la protéine. D'autre part, au cours d'un essai préliminaire, les suspensions pressées ont été centrifugées pendant une heure à 110 000 g, l'absorption du

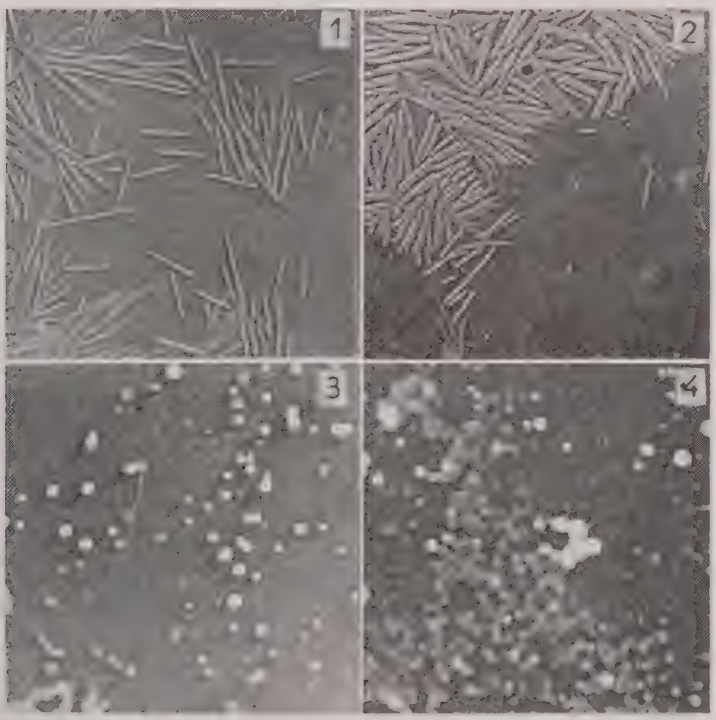


Fig. 37 : Action des pressions sur le V.M.T. *non agrégé :*

1 Virus témoin.
2 — pressé à 2 000 kg/cm².
3 — — à 4 000 kg/cm².
4 — — à 14 000 kg/cm².

surnageant a été étudiée dans l'U.V. à 2 650 et 2 800 Å. L'étude du rapport absorption à 2 650 Å/absorption à 2 800 Å montre une importante libération d'acide ribonucléique, surtout à partir de 10 000 kg/cm².

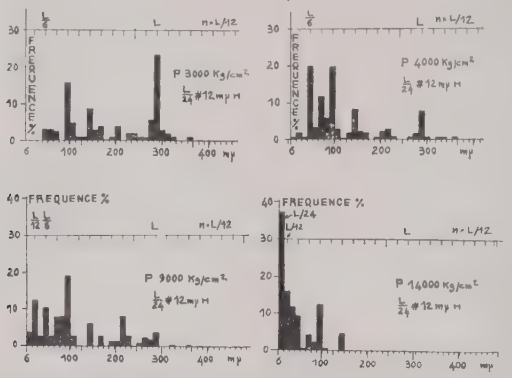


Fig. 38 : Polygones de fréquence représentant la répartition des dimensions des particules dans des suspensions de V.M.T. agrégé soumises à diverses pressions.

Il se produirait donc une véritable éjection de l'acide ribonucléique. Ainsi la pression agit de deux manières : en séparant l'acide ribonucléique de la protéine et en fragmentant la particule virulente en sous-unités. Il est à remarquer que la structure du virus telle qu'elle est décrite, n'apparaît pas à la microscopie électronique sur les particules non agrégées et pas plus que Williams (1952) nous n'avons pu mettre en évidence l'existence de sous-unités sur des particules non pressées; il n'est pas possible de dire si la structure en sous-unités bien déterminées est un privilège de la partie protéique ou si elle se retrouve dans la fraction nucléique. Les travaux de Lauffer, Kula et Buzzel (1956) avec les rayons X ont montré cependant que l'acide ribonucléique pouvait se fragmenter seul, sans que la protéine soit touchée; il est donc possible que les points de moindre résistance du manchon protéique se retrouvent dans la chaîne ribonucléique.

3° Au cours de ce travail, nous avons mis en évidence les comportements différents des virus agrégés et non agrégés vis-à-vis des hautes pressions (fig. 36-37). Les forces qui unissent les particules virulentes disposées bout à bout apparaissent très nettement plus faibles que celles qui unissent les sous-unités les unes aux autres dans la particule virulente élémentaire, cependant, leur nature doit être apparentée; l'agrégation intervient en renforçant les liaisons unissant les sous-unités entre elles, puisque le virus agrégé est nettement plus résistant à la pression que le virus non agrégé : il est également possible qu'au cours de l'agrégation d'autres phénomènes interviennent, qui empêchent

ensuite l'apparition des particules sphériques. Ainsi l'agrégation des particules élémentaires de virus apparaît comme un phénomène complexe apportant des modifications à l'intérieur même du bâtonnet virulent élémentaire et le virus agrégé doit être considéré comme un matériel différent du virus non agrégé.

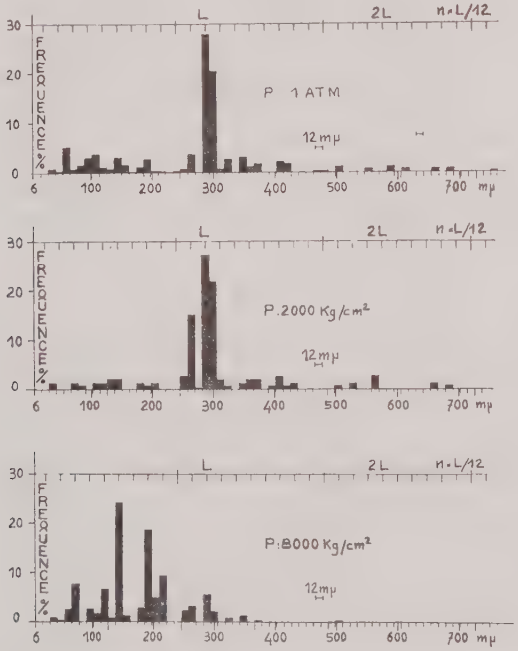


FIG. 39 : Polygones de fréquence représentant la répartition des dimensions des particules dans des suspensions de V.M.T. non agrégé soumises à diverses pressions.

En somme, l'état d'agrégation du virus des cultures peut rendre compte de sa faible virulence et montre surtout qu'il s'agit d'un virus différent en réalité très sensiblement de celui des feuilles dans sa structure interne.

QUATRIÈME PARTIE

CONCLUSIONS

De l'ensemble des résultats obtenus, un certain nombre de faits se dégagent :

1° Comparaison entre le comportement des disques et celui des cultures.

L'étude comparative des comportements des disques de feuilles et des cultures de tissus montre que ces dernières représentent un matériel spécifique doté d'un métabolisme propre : il est donc difficile d'extrapoler à d'autres tissus les résultats qu'il fournit. Cette notion de spécificité des cultures s'est imposée à la suite de l'étude de certains constituants qui caractérisent le métabolisme cellulaire; les colonies sont en effet, pauvres en N.P., A.R.N., A.D.N. en valeur absolue. Cette pauvreté dans un tissu dont la croissance est rapide, implique que le cytoplasme a un pouvoir de synthèse important, du moins en ce qui concerne certaines substances : la cellulose par exemple (Newcomb, 1955). On constate aussi une différence qualitative entre le comportement du cytoplasme des cultures et celui des feuilles; les cultures de tissus possèdent un cytoplasme dont le pouvoir de synthèse est dévié surtout vers la production de substances inertes du type amidon ou cellulose, alors que celui des feuilles reste capable de fabriquer des substances protéiques ou des acides nucléiques par exemple. Comme les synthèses envisagées ne peuvent être effectuées que par le truchement d'enzymes nous en inférons indirectement que l'équipement enzymatique des cultures est différent de celui des feuilles. Il est difficile d'admettre que l'équipement photosynthétique des feuilles soit seul responsable de cette différence : les phénomènes observés se retrouvant lorsque les disques de feuilles sont disposés à l'obscurité. Il faut donc admettre que le protoplasme des cultures de tissus a acquis des propriétés particulières. L'absence presque totale des chloroplastes dans les colonies pourrait être à l'origine de cette transformation en privant les cellules de certaines propriétés biochimiques non directement liées au rôle photosynthétique joué par ces inclusions.

D'autre part, bien que les teneurs en A.R.N., A.D.N. et N.P. des cultures de tissus soient plus faibles que celles des méristèmes, ces cultures ont en réalité un caractère méristématique exalté; ceci découle des valeurs remarquables des rapports A.D.N. N.P. et A.R.N. A.D.N. Les acides nucléiques apparaissent ainsi comme les critères physiologiques fondamentaux, dont la connaissance permet de situer biologiquement un matériel déterminé. La comparaison des comportements des disques de feuilles et des cultures de tissus, peut donc être fructueuse, à la condition de définir les critères qui seront employés comme terme de comparaison. Dans le cas qui nous occupe, l'N.P. et les acides nucléiques nous ont paru les plus intéressants. C'est ainsi que ce type de comparaison a permis de mieux comprendre le mode d'action du lait de coco, et permettra d'aborder de nombreux autres problèmes tels ceux des métabolismes adjuvants induits par l'infection virale (scopolétine, modification enzymatique, synthèse protéique parasite, etc.).

2° Le problème des rapports virus-cellule hôte.

On a souvent admis que les rapports qui s'établissent entre un virus et une cellule hôte définie étaient constants. Dans bien des cas l'étude des rapports virus-cellule est facilité par des modifications morphologiques ou histologiques que le virus entraîne; mais dans le cas de virus ne se manifestant que par une faible symptomatologie ou pas de symptomatologie du tout (culture de tissus), il est indispensable de trouver des modes d'expression de ces rapports : c'est l'un des résultats de ce travail.

a) *Les rapports virus-cellule exprimés en fonction de l'évolution des éléments biochimiques.*

Le matériel utilisé subit au cours de son évolution des modifications sensibles : comme nous l'avons vu, les cultures de tissus croissent et leur comportement biochimique varie au cours des diverses phases de cette croissance. L'évolution des constituants biochimiques des cultures rend compte de ces variations. Il en est de même des disques, où la mise en survie s'accompagne de modifications profondes, l'une des plus remarquables étant sans doute l'accroissement sensible du pouvoir des disques de synthétiser l'A.D.N., pouvoir considérablement exalté par le lait de coco.

Nous avons vu que les rapports virus-cellule pouvaient être conditionnés par la physiologie du matériel hôte, les constituants biochimiques cytoplasmiques représentant le mode d'expression le plus correct de ces modifications. En effet, on a vu que les rapports quantitatifs unissant le V.M.T. à l'N.P. et aux A.R.N. sont différents dans les disques de feuilles et dans les cultures. Les constituants biochimiques cytoplasmiques des cultures semblent beaucoup moins

aptes à participer directement ou indirectement à la synthèse du V.M.T., que ceux des disques de feuilles. L'activité protoplasmique des cultures serait donc différente de celle des feuilles vis-à-vis du virus. L'existence d'une structure liée à la photosynthèse chez les feuilles ne semble pas être seule responsable des différences de concentrations du V.M.T. entre les disques et les cultures, en effet dans les deux cas les rapports V.M.T./N.P. et A.R.N./N.P. devraient être voisins. Par ailleurs dans les cultures, l'activité protoplasmique se modifie au cours de la croissance; pendant la phase de multiplication il y a compétition entre la synthèse du V.M.T. et celle des constituants biochimiques normaux des cellules nouvellement formées, compétition évidente si l'on examine les rapports virus/N.P. et virus/A.R.N.

Enfin l'étude de l'influence de l'A.I.A. sur les cultures de tissus virosés indique qu'au cours de la phase de multiplication tout facteur affectant l'N.P. et les A.R.N. normaux, affecte quantitativement de la même manière le virus; ceci implique que les rapports virus-cellule sont parfaitement définis au cours de cette phase et que le pourcentage de matériel mis à la disposition des mécanismes de synthèse du V.M.T. est toujours le même : ceci semble en opposition avec ce que nous avons observé dans les disques de feuilles. Les rapports V.M.T.-cellule dans les cultures de tissus et dans les feuilles semblent différents et seule l'étude des critères biochimiques a permis de le montrer. Il nous apparaît donc indispensable dans toute étude sur la multiplication des virus des végétaux de relier les phénomènes observés aux constituants biochimiques du matériel utilisé.

Dans ce paragraphe la variété des liens virus-cellule apparaît. Ces liens sont-ils constants?

b) *La variabilité des rapports virus-cellule.*

Ces rapports peuvent être différents suivant le matériel à l'intérieur duquel le virus se développe; mais l'étude de l'action comparée des acides aspartique et glutamique en culture de tissus et en disques de feuilles a montré que les liens unissant le V.M.T. et les cellules pouvaient changer au cours de la vie de ces dernières. En effet, les cultures de tissus nous permettent de suivre la multiplication du V.M.T. au cours de toutes les phases de la vie cellulaire, depuis le stade méristématique jusqu'au stade sénescent. On peut ainsi s'apercevoir que les rapports virus-cellule changent au cours de la vie cellulaire et peuvent exprimer les divers aspects de celle-ci. Ces phénomènes risquaient de passer inaperçus par la seule étude de la multiplication du virus dans les feuilles.

On aboutit ainsi à une notion dynamique des rapports virus-cellule permettant d'expliquer certains résultats. C'est ainsi que Kassanis (1957) a trouvé une inhibition du V.M.T. par les phosphates en cultures de tissus, alors qu'en feuilles immergées cette substance

favorise au contraire sa multiplication; on peut penser que l'auteur anglais a travaillé durant la phase de multiplication des cellules (ses expériences ne dépassant pas six semaines) et s'est trouvé dans des conditions analogues aux nôtres en ce qui concerne les acides glutamique et aspartique. Ses résultats (qui par ailleurs sont en contradiction avec ceux de NICKELL, 1955) peuvent s'expliquer grâce aux considérations précédentes.

Il faut remarquer enfin que les cultures de tissus comportent à un moment de leur vie, des cellules à divers stades de développement. Il y a des cellules méristématiques dans lesquelles le virus ne se développe guère et des cellules adultes où le virus se multiplie. Les stades que nous avons définis dans la deuxième partie de ce mémoire expriment en réalité l'importance relative du nombre des cellules adultes par rapport à celui des cellules méristématiques. Remarquons encore, que le caractère tumoral des tissus de Crown-Gall n'implique pas un comportement du V.M.T. différent de celui constaté dans les tissus accoutumés. Il est vrai que GAUTHERET a démontré que les cultures de tissus accoutumés sont douées de propriétés tumorales et sont donc physiologiquement peu éloignées du Crown-Gall.

c) *Les interactions virus-cellule.*

De nombreux auteurs ont montré (BEST, 1936; PIRIE, 1957; MARTIN, thèse, 1958) que la présence de virus dans les cellules introduit une perturbation se traduisant par l'apparition de substances nouvelles (protéines non virulents voisines du V.M.T.), par l'exaltation de la synthèse de certains constituants normalement présents dans les cellules (scopolétine : BEST, 1936; enzymes : MARTIN, thèse, 1958). Mais dans l'ensemble, on considérait que l'hôte ne modifiait pas la physionomie du virus. Si des différences étaient constatées entre la souche initiale et le virus récupéré après passage sur un hôte différent, on admettait qu'il s'agissait d'une mutation ou d'une sélection. C'est ainsi que récemment, KNIGHT (1957) a montré que le V.M.T. cultivé sur des plantes aussi éloignées que le Tabac et le Phlox était identique. Cependant, nous avons vu que le V.M.T. des cultures, qui avait pour origine la souche unique et bien définie de V.M.T. utilisée depuis 1942 au laboratoire, différait de cette souche, par sa virulence et sa morphologie. Cette transformation ne semblait pas imputable à une mutation puisque le virus des cultures, inoculé à des Tabacs, récupérait ses caractères initiaux. En réalité, une étude très approfondie à la fois sur les plans physico-chimiques et biologiques serait indispensable pour affirmer que le V.M.T. des cultures inoculé à des Tabacs et isolé de ceux-ci est rigoureusement identique à la souche dont nous sommes parti: en effet, la virulence et la symptomatologie peuvent être identiques alors que les virus sont différents (la perte de thréonine par le V.M.T. ne modifie pas les propriétés biologiques et immunologiques

de celui-ci). Ce fait pouvait paraître curieux et cette labilité en contradiction avec la stabilité bien connue des souches. Or, au cours de la rédaction de ce mémoire, nous avons eu connaissance des travaux de Bawden (1956) qui a montré que le V.M.T. isolé du Cow-Pea adoptait des caractères physico-chimiques et biologiques nouveaux et réversibles après passage sur *Phaseolus*.

Il n'est donc pas impossible d'imaginer l'existence d'une phénotypie virale. Celle-ci, si nous admettons que les propriétés génétiques des virus résident dans leur fraction nucléique, résulterait de modification de la fraction protéique du virus. Ces transformations doivent être induites au moment de la synthèse et non pas ultérieurement, la particule de V.M.T. étant très stable et ne participant plus aux processus de renouvellement propres aux substances incluses dans le métabolisme cellulaire. Ainsi semble apparaître une plasticité de la fraction protéique du V.M.T. qui se manifeste au moment de l'induction de la synthèse des nouvelles particules virales.

3° Le problème du mécanisme de la multiplication des virus des plantes.

Ce problème a été abordé par de nombreux auteurs et presque exclusivement à l'aide du V.M.T. Les moyens employés ont été bien différents des nôtres et ont porté sur la phase de pénétration. Nous l'avons abordé en utilisant les variations biochimiques dans les tissus infectés. Avec la ribonucléase, on a montré (Jeener, 1955) que les deux fractions du V.M.T. se séparaient au moment de la pénétration de la particule virulente dans les cellules : la fraction ribonucléique responsable étant détruite par la ribonucléase. Par ailleurs, Bawden et Kleczkowski (1953-1955) ont montré que le virus X de la pomme de terre irradié avec de l'U.V. perdait son pouvoir pathogène, mais pouvait le récupérer s'il était inoculé à des plantes, elles-mêmes exposées ensuite à la lumière. D'autre part, Bawden et Harrison (1955), Siegel et *al.* (1956) ont vu que les feuilles de plantes infectées avec divers virus présentaient moins de lésions si elles étaient irradiées un temps suffisamment court après leur inoculation. Ces faits, qui sont à rapprocher de ceux observés à propos du bactériophage, sont interprétés par les auteurs qui les ont mis en évidence, à l'aide d'une hypothèse impliquant la séparation des virus en leurs constituants. Les observations effectuées par nous, conduisent à des résultats voisins. En effet, les disques de feuilles infectées non seulement ne contiennent pas plus d'A.R.N. que les disques sains correspondants, mais ils en contiennent moins (d'autre part, chez certains Tabacs âgés, le pourcentage des A.R.N. du virus par rapport aux A.R.N. totaux est élevé). L'interprétation peut être la suivante : le V.M.T. au moment de sa pénétration provoque une dépolymérisation et une dégradation des A.R.N. normaux qui se traduit par d'inévitables pertes aboutissant à une teneur plus faible en A.R.N. des disques virosés par rapport aux

témoins. Ceci est en accord avec le point de vue exprimé par Basler et Commoner (1956) observant une augmentation sensible des A.R.N. solubles au début de l'infection. Or, cette véritable mobilisation des A.R.N. est sans doute due à la fraction A.R.N. des particules introduites dans la cellule, qui servirait ainsi de catalyseur; ce mécanisme implique évidemment la séparation des deux fractions de la particule virulente. On peut donc envisager le schéma suivant : la particule virale au moment de la pénétration se sépare en ses constituants. l'A.R.N. du virus provoque la dégradation en nucléotides des A.R.N. normaux et resynthétise sa propre molécule en réorganisant les nucléotides mis à sa disposition. Quant à la fraction protéique dont nous avons vu qu'elle était fabriquée en supplément des protéines normales, elle utiliserait pour sa synthèse l'appareil de la synthèse protéique normale de l'hôte. La virose se traduit finalement par une spoliation en A.R.N.. cette interprétation a été également rendue possible par l'étude de l'influence de l'A.I.A. sur la multiplication du virus en disques de feuilles.

Les conclusions précédentes sont-elles valables pour les cultures de tissus et les méristèmes? Il n'est pas possible de répondre à cette question en se basant uniquement sur les résultats obtenus : la faible teneur en virus des cultures ne permet pas de savoir si les fractions protéiques et nucléiques du V.M.T. sont puisées ou non sur les protéines et les acides nucléiques normaux; l'interprétation des rapports virus/A.R.N. et virus/N.P. au cours de l'action de l'A.I.A. sur les cultures de tissus virosés tend à montrer que les constituants du virus seraient synthétisés en même temps que les constituants biochimiques normaux et suivraient des variations parallèles.

Au terme de cette étude dont nous ne nous dissimulons ni les lacunes ni les insuffisances, nous avons pu mettre en évidence les caractères biochimiques bien particuliers des cultures de tissus, particularités qui se retrouvent dans la manière dont s'établissent les rapports virus-cellules dans les cultures infectées par le V.M.T.

SUMMARY

The work of White, Segretain and Morel has demonstrated that Tobacco Mosaic Virus (T.M.V.) can multiply in the isolated roots of Tomatoes and in fragments of Tobacco stems surviving on the appropriate nutritive media.

The problem has been taken up again in order to understand the possible differences in the rate of the multiplication of T.M.V. when the latter takes place in physiologically different cells.

With this aim we have compared the multiplication of viruses in cultures of Tobacco tissue cultivated «in vitro» and in discs of leaves surviving in different media.

The first part of this report concerns various classical techniques which have allowed this work to be done and the adaptation of these techniques to experimental necessities. Particular stress has been placed on the techniques of extraction and purification of the virus which in additione have formed the subject of new research. The discovery of an ultra-centrifugeable substance in the ground-up cultures of non-infected Tobacco tissues has necessitated the adaptation of the spectrophotometric analysis of the T.M.V. in the case of tissue cultures. Physicochemical and electronic microscopic studies have clearly shown the qualitative and quantitative effects of the different techniques of purification of the virus.

The second part of the work refers to the behaviour and variations of the biochemical cellular constituents of the tissue cultures and leafs discs during the growth of the former and the survival of the latter. The cultures of Tobacco tissue appear to be poor in protein nitrogen (P.N.) in soluble nitrogen (S.N.) and in nucleic acids in comparison to the discs of leaves. However a relative richness of the cultures in D.N.A. is evident : the ratio R.N.A./D.N.A. being always less than one. On the other hand the discs of leaves surviving in distilled water as well as in a mineral medium are the site of an important lysis of the proteins and the R.N.A. although on the contrary some non negligible quantities of D.N.A. are synthesized during the same period of time. This study has indicated that there is a lag in time between the evolution of the diverse constituents of the tissue cultures. The definition of the successive phases of the growth has been envisaged. The amount of T.M.V. in the tissue cultures and in the discs of the leaves, expressed in terms of the P.N. or of the R.N.A. has indicated that the former contain noticeably less virus than the latter. Thus it appears that the power to synthesize T.M.V. is lower in the case of the protoplasm of the tissue cultures compared to the synthesizing power of the leaves.

On the other hand an effective antagonism appears in the course of the growth of the tissue cultures between the synthesis of the virus and that of the proteins and of the R.N.A. : this antagonism is beneficial to the normal constituent cells. This fact explains, among other things, that the growth of the tissue cultures is not affected by the presence of the virus.

A series of research using leaf discs has made it possible to show that the mechanism of the synthesis of the two fractions of T.M.V. were probably not the same. The synthesis of the protein fraction is superposed on to that of the normal proteins of the host, while the ribonucleic part is taken from the R.N.A. of the diseased cell causing a spoliation of the latter in R.N.A. Another series of research utilizing growth accelerators (coconut milk and A.I.A.) has indicated that the processes implied in the multiplication of T.M.V. in the leaves and in the cultures were not identical. In the tissue cultures, variations occur in the relations between the virus and the infected cell in the course of the various

phases of the cells life : the opposing action of the glutamic and aspartic acids on the synthesis of T.M.V. in tissue cultures having been made evident, it has been possible to demonstrate this.

Briefly the study of the multiplication of T.M.V. in leaf discs and in tissue cultures makes it possible to introduce the notion of the variety of the virus cell relationships: the fact that these relationships change in the course of the life of the cell requires that one assumes a dynamic conception and considers the variability. The T.M.V. extracted from the tissue cultures being, at a given concentration less virulent than that extracted from the leaves, the third part of this work is devoted to the study of the causes of this modification and to that of the responsibility of the two fractions of T.M.V. in the expression of pathogenic power.

Experiments indicate that the change observed cannot be attributed to a mutation. On the other hand it appeared that the ultracentrifugable substance extracted from the tissue cultures was not responsible for the decrease of virulence of the T.M.V. from the cultures, but on the contrary could cause its increase. Moreover various experiments carried out with tannins and acriflavine tend to indicate that it is necessary that the two fractions of T.M.V. remain intact, under the usual conditions, in order to express normal pathogenic power. Also it has been deduced that the decrease in pathogenic power of the T.M.V. of the cultures does not seem to be due to a physicochemical modification of its protein and ribonucleic fractions. Electronic microscopy then indicated detectable differences in the aspect of T.M.V. from cultures and from leaves, the former presented an aggregated aspect. This had led to research on the influence of structure variations on the modifications of virulence. The action of high pressure on the T.M.V. confirm and defines the classical views expressed by numerous authors concerning the structure of the elementary T.M.V. particle has demonstrated that it was possible to attribute the decrease of the pathogenic power of the virus of cultures to the phenomenon of longitudinal aggregation.

The comparative study of the multiplication of T.M.V. in tissue cultures and in leave discs has made evident the variety and the variability of the virus-cell relationships. On the other hand a certain plasticity of the elementary particle of T.M.V. appeared, raising the problem of the variations in plant viruses.

BIBLIOGRAPHIE

Augier de Montgremier, H. & G. Morel. — 1948. Sur la diminution de la teneur en virus (Marmor Tabaci Holmes) de tissus de Tabac cultivés *in vitro*. — *C.R. Ac. Sci.*, 688-689.

Basler, E. & B. Commoner. — 1956. The effect of Tobacco mosaic virus biosynthesis on the nucleic acid content of Tobacco leaf. — *Virology*, **2**, 13-28.

Bawden, F. C. — 1950. Plant viruses and virus diseases. — *Waltham Mass. U.S.A.*

Bawden, F. C. — 1954. Inhibitions and plant viruses. — *Advance in viruses Research.*, **2**, 32-55.

Bawden, F. C. — 1956. Reversible host induced changes in a strain of Tobacco mosaic virus. — *Nature*, London, **177**, 302-304.

Bawden, F. C. & A. Kleczkowski. — 1945. Proteins precipitation and virus inactivation by extracts of Strawberry plants. — *J. Pomol.*, **21**, 1-7.

Bawden, F. C. & A. Kleczkowski. — 1955. Studies on the ability of ligh to counteract the inactivating action of Ultraviolet radiation on Plant viruses. — *J. Gen. Microbiol.*, **13**, 370-382.

Bawden, F. C. & N. W. Pirie. — 1953. Virus multiplication considered as a form of protein synthesis. — *In the Nature of Virus multiplication Symp. Soc. gen., Microbiol.*, **2**, 21-41.

Bawden, F. C. & N. W. Pirie. — 1956. Observation on the anomalous proteins occuring in extracts from plants infected with strains of Tobacco mosaic virus. — *J. Gen. Microbiol*, **14**, 460-477.

Bawden, F. C. & N. W. Pirie. — 1957. A virus inactiving system from Tobacco leaves. — *J. Gen. Microbiol.*, **16**, 696-710.

Bawden, F. C., N. W. Pirie, J. D. Bernal & I. Fankuchen. — 1936. Liquid crystalline substances from virus infected plants. — *Nature*, **138**, 1051-1066.

Beale, (Purdy-H. A.). — 1928. Multiplication of the virus of Tobacco mosaic in detached leaves. — *Am. J. Bot.*, **15**, 94-116.

Benda, G. — 1956. The effect of the New Zealand Spinach juice on the infection of cowpeas by Tobacco ringspot virus. — *Virology*, **2**, 438-443.

Bennet, C. W. — 1934. Plant tissu relations of the sugar-beet curly.

Best, R. J. — 1936. Precipitation of the Tobacco mosaic virus complex at its isoelectric point. — *Must. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, **14**, 113-135.

Camus, G. — 1954. Le mécanisme de la transformation tumorale chez les végétaux. — *VIII*e *Congrès de Bot. Paris. Section*, 9-10, 108-109.

Caplin, S. M. — 1957. Inhibition of the growth promoting. Effect of coconut milk by I.A.A. (Abstr.). — *Plant Physiol.*, 32, XIX.

Caplin, S. M. & F. C. Steward. — 1948. Effect of coconut milk on the growth of explants from Carrot roots. — *Science*, **108**, 655-657.

Christiansen, G. S. & K. V. Thimann. — 1950. The metabolism of stem tissue, during growth and its inhibition. I. Carbohydrates. — *Arch. Biochem.*, **26**, 230-248.

Commoner, B. & P. M. Dietz. — 1952. Changes in non protein nitrogen metabolism during Tobacco virus mosaic biosynthesis. — *J. Gen. Phys.*, **35**, 847-856.

Commoner, B. & F. L. Mercer. — 1952. The effect of thiouracil on the rate of Tobacco mosaic virus biosynthesis. — *Arch. Bioch. and Biophys.*, **35**, 278-289.

Commoner, B., F. L. Mercer, P. Merril & A. J. Zimmer. — 1950. Micro analytical determination of the rate of Tobacco mosaic virus synthesis in Tobacco leaf tissue. — *Arch. Bioch and Biophys.*, **27**, 271-286.

Commoner, B., D. L. Schieber & P. M. Dietz. — 1953. Relationships between Tobacco mosaic virus biosynthesis and the nitrogen metabolism of the host. — *J. Gen. Physiol.*, **36**, 807-830.

De Ropp, R. S. — 1945. Studies on the physiologie of leaf growth. I. The effect of various accessory growth factors on the growth of the first leaf of isolated stemps tip of Rye. — *Ann. of Bot. n. s.*, **9**, 369-381.

Duhamet, L. — 1949. Action du lait de coco sur la croissance des tissus de Topinambour cultivés *in vitro*. — *C.R. Ac. Sci.*, **229**, 1353-1356.

Duhamet, L. — 1953. Recherche préliminaire sur les variations du pouvoir de prolifération de cultures de tissus végétaux en fonction du poids de l'explantat ensemencé. — *C.R. Soc. Biol.*, **147**, 83-85.

Dunlap, A. A. — 1930. The total nitrogen and carbohydrates and the relative rates of respiration, in viruses infected plants. — *Am. J. Bot.*, 348-357.

Ephrussi, B., H. Hottinguer & A. M. Chimènes. — 1949. Action de l'acriflavine sur les levures. I. La mutation petite colonie. — *Ann. Inst. Pasteur*, **76**, 351-367.

Fischer, R. A. — 1952. Statistical methods for research Workers, *éd. Oliver and Boyd* Edimbourg, 356 p.

Frankel-Conrat, & R. C. Williams. — 1955. Reconstitution of active Tobacco mosaic virus from its inactive protein and nucleic acid components. — *Proc. Natl. Ac. Sci. U.S.A.*, **41**, 690-698.

Gautheret, R. J. — 1939. Sur la possibilité de réaliser la culture indéfinie des tissus de tubercules de Carotte. — *C.R. Ac. Sci.*, **208**, 118-120.

Gautheret, R. J. — 1942. Manuel technique de culture de tissus végétaux. — Masson, Paris, 170 p.

Gautheret, R. J. — 1952. Remarques sur l'emploi du lait de coco pour la réalisation des cultures de tissus végétaux. — *C. R. Ac. Sci.*, **235**, 1321-1322.

Gautheret, R. J. — 1955. Sur la variabilité des propriétés physiologiques des cultures de tissus végétaux. — *Rev. Gen. Bot.*, **62**, 5-112.

GENDRON, Y. — 1950. Action du lait de coco et d'un extrait de Coprah sur la multiplication du virus de la mosaïque du Tabac et du virus X de la Pomme de terre chez le Tabac. — *C.R. Ac. Sci.*, **230**, 1974-1976.

GIERER, A. & G. SCHRAMM. — 1956. Die infektiositat der nuclein saure aus Tabakmosaikvirus. — *Zeits. für Natur*, **11** *b*, 138-142.

HARRISSON, B. D. — 1956. The infectivity of extracts made from leaves at intervals after inoculation with viruses. — *J. Gen. Microb.*, **15**, 210-220.

HELLER, R. — 1953. Recherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés *in vitro*. — Masson, Paris, 223 p. *Thèse Fac. Sc. Paris* et *Ann. Sc. Nat. Bot. Biol. Veg.*, **14**, 1-223.

HILDEBRANDT, A. C. & A. J. RIKER. — 1947. Influence of some growth regulating substances on Sun flower and Tobacco tissue *in vitro*. — *Am. J. Bot.*, **34**, 421-427.

HILDEBRANDT, A. C., A. J. RIKER & J. L. WATERTOR. — 1952. Growth and virus activity in Tobacco tissue cultures with naphtalene acetic acid or tryptophane. — (Abstr.) *Phytopath.*, **42**, 467.

HILDEBRANDT, A. C. & A. J. RIKER. — 1953. Virus activity and host tissue growth on synthetic media with different levels of nitrate, phosphate and potassium. — (Abstr.). *Phytopath.*, **43**, 475.

HILDEBRANDT, A. C., A. J. RIKER & D. VALDIVIA. — 1955. Tobacco mosaic virus infectivity and host tissue growth on synthetis media with different concentration of nitrogens compounds. — (Abstr.). *Plant Physio.*, suppl. 30, 36, 37.

HIRTH, L. — 1951. Contribution à l'étude de l'inhibition du virus de la mosaïque du Tabac, par diverses substances tanniques. Mode d'action de ces dernières. — *Ann. Inst. Pasteur*, **80**, 458-470.

HIRTH, L. — 1954. Action de l'acriflavine sur le virus de la mosaïque du Tabac *in vitro* et *in vivo*. — *VII*e *Congrès Int. de Bot.* Paris, section 18-19-20, 217.

HIRTH, L. — 1958. Évolution de la concentration du virus de la mosaïque du Tabac, en fonction des éléments biochimiques, au cours de la croissance de tissus de Tabac cultivés *in vitro*. — *C.R. Ac. Sci.*, **247**, 1795-1797.

HIRTH, L. — 1958. Remarques sur l'influence de l'A.I.A. sur la multiplication du V.M.T. en disques de feuilles et en cultures de tissus. — *C.R. Ac. Sci.*, **247**, 1918-1920.

HIRTH, L., J. BASSET & O. CROISSANT. — 1957. Structure et propriétés des particules élémentaires du virus de la mosaïque du Tabac. I. Résultats préliminaires obtenus au moyen des hautes pressions. — *Ann. Inst. Pasteur*, **93**, 309-322.

HIRTH, L. & E. DROUHET. — 1953. Inhibition du virus de la mosaïque du Tabac par le polyoside capsulaire de *Torulopsis neoformans*. — *Ann. Inst. Pasteur*, **84**, 437-440.

HIRTH, L., R. GALZY & P. SLIZEWIC. — 1957. Influence de quelques facteurs sur la multiplication du virus de la mosaïque du Tabac dans des disques de feuilles immergées. — *C.R. Ac. Sci.*, **244**, 258-261.

HIRTH, L. & G. LEBEURIER. — 1959. Étude des variations de quelques constituants biochimiques cellulaires de disques de feuilles de Tabacs, au cours de leur survie dans des milieux variés. — *C.R. Ac. Sci.*, **248**, 136-138.

HIRTH, L. & G. SEGRÉTAIN. — 1954. Multiplication du virus de la mosaïque du Tabac en culture de tissus. — *VIII*e *Congrès Int. de Bot. Paris*, section 18-19-20-216.

HIRTH, L. & G. SEGRÉTAIN. — 1956. Quelques aspects de la multiplication du virus de la mosaïque du Tabac en culture de tissus. — *Ann. Inst. Pasteur*, **91**, 523-536.

HIRTH, L. & J. STOLKOWSKY. — 1957. Action de la cortisone sur la multiplication du virus de la mosaïque du Tabac. — *C.R. Ac. Sci.*, **245**, 119-122.

HOLMES, F. O. — 1928. Accuracy in quantitative work with Tobacco mosaic virus. — *Bot. Gaz.*, **86**, 66-81.

HOLMES, F. O. — 1929. Inoculating methods in Tobacco mosaic studies. — *Contribs. Boyce Thomson Inst.*, **1**, 521-528.

HOLMES, F. O. — 1934. A masked strain of Tobacco mosaic virus. — *Phytopath.*, **24**, 845-873.

Holmes, F. O. — 1955. Elimination of spotted wilt from Dahlia by propagation of tip cuttings. — *Phytopath.*, **45**, 224-230.

Humphris, E. C. & B. Kassanis. — 1955. Effects of darkness on the constitution of Tobacco leaves and susceptibility to virus infection. — *Ann. of Appl. Biol.*, **43**, 686-695.

Jeener, R. — 1956. Le rôle de l'acide ribonucléique dans la multiplication des virus. — *Proc. 3rd intern. Congress. Biochem.*, Brussels, 343-344.

Kassanis, B. — 1953. Some effects of sucrose and phosphorus in increasing the multiplication of Tobacco mosaic in detached Tobacco leaves. — *J. Gen. Microbiol.*, **9**, 467-474.

Kassanis, B. — 1957. The multiplication of Tobacco mosaic virus in cultures of tumorous Tobacco tissues. — *Virology*, **4**, 5-13.

Kassanis, B. & A. Kleczkowski. — 1948. The isolation and some properties of a virus inhibiting protein from Phytola cca esculenta. — *J. Gen. Microbiol.*, **2**, 143-153.

Kleczkowski, A. — 1950. Interpreting relationships between the concentrations of plant virus and numbers of local lesions. — *J. Gen. Microbiol.*, **4**, 53-69.

Klein, R. M. & G. K. K. Link. — 1955. The etiology of crown-gall. — *Quart. Rev. Biol.*, **30**, 207-277.

Knight, C. A. — 1947 *b*. The nature of some the chemical differences among strains of Tobacco mosaic virus. — *J. Biol. Chem.*, **171**, 297-308.

Knight, C. A. — 1957. Some recent developments in the chemistry of virus mutants. — *Ciba foundation Symposium on the nature of viruses*, **69**, 90.

Kutsky, R. J. — 1952. Effects of indol-butyric acid and other compounds on virus concentration in plant tissue cultures. — *Science*, **115**, 19-20.

Kutsky, R. J. & T. E. Rawlins. — 1950. Inhibition of virus multiplication by naphtalen acetic acid in Tobacco tissue cultures as revealed by a spectrophotometric method. — *J. Bacteriol.*, **60**, 763-766.

Lavin, G. I. & W. M. Stanley. — 1937. The ultraviolet absorption spectrum of crystalline Tobacco mosaic virus protein. — *J. Biol. Chem.*, **118**, 269-274.

Lebeurier, G. — 1959. Influence de thermopériodes à 37 °C sur l'évolution des constituants biochimiques cellulaires et sur la multiplication du virus de la mosaïque du Tabac dans des disques de feuilles de Tabacs. — *C.R. Ac. Sci.*, **249**, 579-581.

Lebeurier, G. — 1959. Remarques sur l'influence de la température sur la multiplication du virus de la mosaïque du Tabac en cultures de tissus. — *C.R. Ac. Sci.*, **249**, 795-797.

Limasset, P. — 1957. Autoreproduction de quelques virus des végétaux. — *Biocytologia.*, **111**, 175-252.

Limasset, P. & H. Augier de Montgremier. — 1947. La microméthode sérologique pour l'étude des viroses végétales. — *Ann. Epiph.*, **13**, 173-178.

Limasset, P. & P. Cornuet. — 1949. Recherche du virus de la mosaïque du Tabac dans les méristèmes des plantes infectées. — *C.R. Ac. Sc.*, **228**, 1971-1972.

Limasset, P., P. Cornuet & Y. Gendron. — 1949. Titrage de virus de la mosaïque du Tabac (Marmor tabaci Holmes) dans les organes aériens de Tabac infectés. — *C.R. Ac. Sci.*, **228**, 1888-1890.

Lioret, Cl. — 1955. Recherches sur le métabolisme des cultures de tissus normaux et pathologiques. — La physiologie des cultures de tissus végétaux. — *Année biologique*, **31**, 185-194.

Lwoff, A., L. Siminovitch & N. Kjeldgaard. — 1950. Induction de la production de bactériophages chez une bactérie lysogène. — *Ann. Inst. Pasteur*, **79**, 815-858.

Markowitch, H. — 1953. Rapports entre la structure des acridines et leur activité en tant qu'agents inducteurs de mutants respiratoires chez la levure. — *Ann. Inst. Pasteur*, **85**, 199-228.

Meneghini, M. & C. C. Delwiche. — 1951. Multiplication of Tobacco mosaic virus in the host Tobacco plant. — *J. Biol. Chem.*, **189**, 177-186.

Miller, C. O. — 1951. Promoting effect of cobaltous and nickelous ions on expansion of etiolated Bean leaf disks. — *Arch. Biochem. Biophys.*, **32**, 216-226.

MOREL, G. — 1948. Recherches sur la culture associée de parasites obligatoires et de tissus végétaux. — *Ann. épiph.* (n. s.), **14**, 123-234.

OGUR, M. & G. ROSEN. — 1950. The nucleic acids of plant tissu. I. The extraction and Estimation of desoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. — *Arch. of Biochem.*, **25**, 262-276.

PIRIF, N. W. — 1955. Some components of Tobacco mosaic virus preparations made in different ways. — *Bioch. J.*, **63**, 316-325.

PORTER, C. A. — 1956. Evaluation of fluorocarbon technique for the isolation of plant viruses. — *Trans. New York. Acad. of Sci.*, **18** (8), 704-706.

RHUIZKOV, V. L. — 1951. Effet de certains amino-acides et de substances apparentées sur la synthèse du virus de la mosaïque du Tabac (en russe). — *C.R. Ac. Sci. U.R.S.S.*, N. S., **80**, 677-680

RYJKOV, V. L. & G. T. LOIDINA. — 1954. Sur la multiplication de la mosaïque du Tabac (V.M.T.) dans les feuilles isolées de la plante. — *D.A.N. SSSR*, XCIX, 559.

SCHELGEL, D. E. & T. E. RAWLINS. — 1953. A comparaison of two methods of preparing Tobacco mosaic virus for spectrophotometric assay. — *Phytopath.*, **43**, 89-91.

SCHRAMM, G. — 1947. Uber die Spaltung des Tabakmosaikvirus und die Wiedervereinigung der Spaltstücke zu hohermolekularen Proteinen. — *I. Die Spaltungreaktion. Z. Naturforsch.*, **26**, 112-121.

SCHRAMM, G. — 1947. Uber die Spaltung des Tabakmosaikvirus und die Wiedervereinigung der Spaltstücke zu hohermolekularen Proteinen. I. Versuch zur Wiedervereinigung der Spaltstücke. — *Naturforsch.*, **26**, 247-257.

SCHRAMM, G., G. SCHUMACHER & W. ZILLIG. — 1955. An infection nucleoprotein from Tobacco mosaic virus. — *Nature*, **175**, 549-550.

SEGRÉTAIN, G. — 1948. Virus et cultures de tissus de Tabac et de Tomate. — *C.R. Acad. Sci.*, **226**, 594-595.

SEGRÉTAIN, G. — 1952. Action du lait de coco et de l'acide naphtalène acétique sur la multiplication d'un virus en culture de tissus. — *C.R. Acad. Sci.*, **235**, 1342-1344.

SEGRÉTAIN, G. & L. HIRTH. — 1953. Action des substances azotées sur la multiplication du virus de la mosaïque du Tabac en culture de tissus. — *C.R. Acad. Sci.*, **147**, 1042-1043.

SPENCER, E. L. — 1941. The influence of nitrogen supply on rate of multiplication of Tobacco mosaic virus. — *Plant. Physiol.*, **16**, 663-668.

TAKAHASHI, W. N. — 1942. A virus inactivator from yeast. — *Science*, **536**, 7-11.

TAKAHASHI, W. N. — 1951. Ultraviolet absorption as a measure of Tobacco mosaic virus nucleoprotein. — *Phytopath.*, **41**, 142-145.

TAKAHASHI, W. N. & M. ISCHII. — 1953. A macromolecular protein associated with Tobacco mosaic virus infection : its isolation and properties. — *Am. J. Bot.*, **40**, 85-90.

THIMANN, K. V. — 1955. L'origine et les fonctions des auxines. — Paris (éd. *S.E.D.E.S.*), 123 p.

THRESH, J. M. — 1956. Some effects of tannic acid and of leaf extracts wich contain tannins on the infectivity of Tobacco mosaic and Tobacco necrosis viruses.— *Ann. Appl. Biol.*, **44**, 608-611.

VICKERY, H. B., C. S. LEAVENWORTH & C. I. BLISS. — 1949. The problem of selecting uniform samples of leaves. — *Plant Physiol.*, **24**, 335-339.

WHITE, P. R. — 1934. Multiplication of the viruses of Tobacco and Aucuba mosaic in growing excised Tomato roots. — *Phytopath.*, **24**, 1003-1011.

WILDMANN, S. G., C. C. CHEO & J. BONNER. — 1949. The proteins of green leaves. III, Evidence of the formation of Tobacco mosaic virus protein at the expense of a main protein component in Tobacco leaf cytoplasm. — *J. Biol. Chem.*, **180**, 985-1001.

ZECH, H. & L. VOGT KOHNE. — 1956. Untersunchungen zur reproduktion des Tabakmosaikvirus. I. Elektronmikroskopische Beobachtungen. — *Exp. Cell. Research.*, **10**, 458-475.

TROISIÈME CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES USTILAGINALES PARASITES DU BASSIN MÉDITERRANÉEN OCCIDENTAL

(Afrique du Nord et Péninsule ibérique)

PAR

L. Guyot, G. Malençon et M. Massenot (1)

Entyloma brizae UNAM. et CIF.

Sur les feuilles de base de *Briza maxima* L., Espagne méridionale : Sierra Blanca, à mi-chemin entre Marbella et Istan, 500 mètres alt., **26 août 1958, L. Guyot.**

Quelques sores crustacés, compacts, noirs, couverts par l'épiderme, localisés sur les feuilles de base d'une plante de *Briza maxima* ont livré à l'observation des spores brun châtain foncé, à épispore épais→ 2 µ, assez nettement et lâchement verruculeuses.

Ces spores, fortement serrées les unes contre les autres, sont rarement isolées et restent le plus souvent associées en petits amas d'importance variable. Elles mesurent **10-15 × 8-13 µ.**

E. brizae a été signalé, sur *Briza maxima*, en Espagne méridionale dans les provinces de Séville et de Cadix (Unamuno-1931), au Maroc près de Tanger (*sub nom. E. crastophilum*, R. Maire et G. Werner-1937), dans l'île de Madère (G. Viennot-Bourgin-1939) ; selon Gutner-1941, le parasite est également connu sur *Briza maxima* en Grèce et en Égypte ; enfin G. Zundel-1953 fait état de récoltes d'*E. brizae* sur *Briza hockelii* au Brésil, sur *Briza maxima* en Algérie (il s'agit peut-être de la récolte du Maroc) et sur *Briza minor* en Uruguay.

Entyloma vulpiae MASSENOT n. sp.

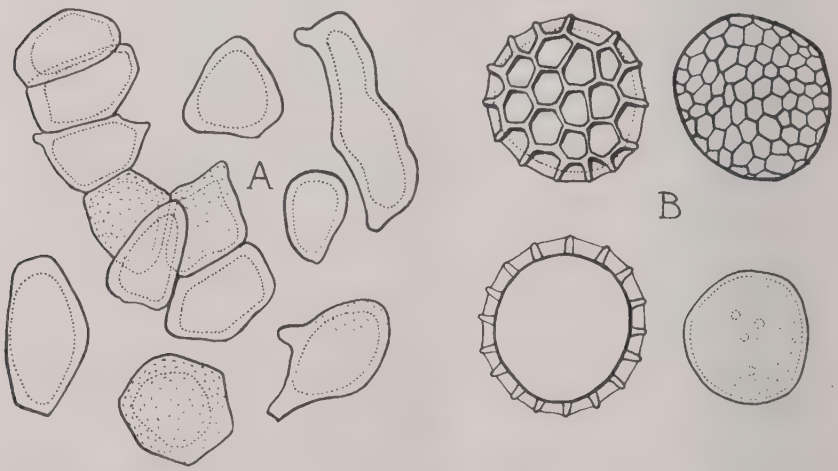
Sur *Vulpia geniculata* (L.) LINK. subsp. *breviglumis* (TRAB.) MURB. var. *glabriglumis* MAIRE, Maroc : cédraie du Seheb (Moyen Atlas central), **3 juillet 1955, J. Vindt.**

(1) Les deux premières parties de ce travail ont été publiées dans la *Rev. Path. vég. Ent. agr. France*, **34** (4), 1955, 181-216 et **37** (2), 1958, 187-196.

L'unique plante parasitée présente la particularité remarquable de supporter deux rares Tilletiacées parasites : un *Entyloma* sur les gaines et les feuilles de base et un *Tilletia* qui fructifie dans les ovaires de cette élégante Graminée.

Le parasite foliaire se présente sous l'aspect de sores crustacés, couverts par l'épiderme, gris plombé à noirs, isolés ou confluents, très petits : 0,5-1 × 0,3-0,5 mm sur les feuilles, 1-2 × 0,1-0,2 mm sur les gaines.

Les spores, nombreuses, associées en courtes chaînes ou en glomérules facilement dissociables, sont de formes très variables, globuleuses à ovoïdes, piriformes ou polyédriques plus ou moins anguleuses; à épispore brun olivâtre fuligineux, épais de 1,5-2 (→ 3) μ, sublisse ou finement verruculeux, ces spores mesurent ***12-18*** (9-20 → 27) × ***9-12*** (8-13), en moyenne **14,7 × 10,5** μ.



A. *Entyloma vulpiae* MASSENOT sur *Vulpia geniculata* : spores (× 1000).

B. *Tilletia fusca* ELL. et EV. sur *Vulpia geniculata* : trois spores et une cellule stérile (× 1000).

A notre connaissance, la seule récolte d'un *Entyloma* sur *Vulpia* est citée in LIRO (1938, 11, p. 388), sur *Vulpia ligustica* LINK. (Sicile : Palerme; leg. TODARO), au chapitre consacré à *Entyloma crastophilum;* nous n'avons aucun autre renseignement sur cette récolte.

Au sein de l'espèce globale *E. crastophilum* qui réunit les *Entyloma* parasites des Graminées, on eut distinguer deux grands groupes : l'un à spores lisses, l'autre à spores finement verruculeuses.

C'est évidemment à ce deuxième groupe qu'appartient la récolte marocaine. Ce groupe, à spores finement verruculeuses, est, en région périméditerranéenne, représenté par trois espèces : *E. gaudinae* V.B.,

E. brizae UNAM. et CIF., *E. glyceriae* FRAG.; nous proposons que s'ajoute à ce groupe *Entyloma vulpiae* n. sp. dont la diagnose latine peut être ainsi établie :

Entyloma vulpiae MASSENOT n. sp.

Soris minutis 0,5-1 × 0,3-0,5 vel 1-2 × 0,1-0,2 mm, crustaceis, sparsis vel gregariis, epidermide tectis, griseo-plumbeis vel atris; sporis numerosis, sparsis, catenulatis vel conglomeratis, angulato-globosis, ovatis vel oblongis, episporio olivaceo-brunneo, fuligineo, 1,5-2 (→ 3) μ crasso, subleve vel minute verruculoso, ***12-18*** (9-20→27) × ***9-12*** (8-13), in medio **14,7 × 10,5** μ.

HAB. : in foliis vaginisque *Vulpiae geniculatae*, Maroc : Moyen Atlas.

Cette nouvelle espèce peut être distinguée des autres *Entyloma* graminicoles à spores finement verruculeuses de la manière suivante :

— Spores ne dépassant pas 18 μ de long :

+ spores à épispore mince (→ 1 μ), brun-olive foncé, mesurant 9 - 14 × 7 - 11 μ, sur *Gaudinia* (en Asie Mineure)..... ***E. gaudinae*** V.B.

+ spores à épispore plus épais (→ 2 μ), brun châtain, mesurant 8 - 17,5 μ en diamètre, sur *Briza* (en Espagne, au Maroc, dans l'île de Madère, en Grèce, Égypte et peut-être Brésil et Uruguay)... ***E. brizae*** UNAM ET CIF.

— Spores pouvant dépasser 18 μ de long :

+ spores à épispore épais de 1,5 - 2 (→ 3 μ), brun olivâtre fuligineux, mesurant 9 - 20 (→ 27) × 8 - 13 μ, sur *Vulpia* (au Maroc)..... ..... ***E. vulpiae*** MASSENOT.

+ spores à épispore très épais (2,5 à 4,5 μ), jaune brunâtre, mesurant 17 - 28 μ en diamètre, sur *Glyceria* (en Espagne et U.R.S.S.)..... ..... ***E. glyceriae*** FRAG. non LIRO.

Sphacelotheca andropogonis (OPIZ) BUBAK.

Dans les inflorescences d'*Andropogon hirtus* L., Espagne méridionale : en bordure d'un rio, dunes à Marbella, 10 août 1958, L. GUYOT; au fond d'un rio asséché, à Marbella, 14 août 1958, L. GUYOT et coteau schisteux, près Istan (Sierra Blanca), 1 000 mètres alt., 26 août 1958, L. GUYOT.

Spores 7-13 × 6-10 μ, brun jaunâtre, finement verruculeuses.

Tilletia fusca ELL. et EV.

Sur la même plante qui porte *Entyloma vulpiae* ci-dessus décrit.

Les graines cariées, de forme ovoïde, mesurant 1,5 à 2,5 mm de long et 1 à 1,5 mm de large, gris-noir, apparaissent entre les minces glumelles des épillets et retiennent par leurs téguments très ténus la masse pulvérulente des spores.

Ces dernières, globuleuses ou subglobuleuses, châtain pâle à brun châtain assez foncé, ornées d'un réseau bien marqué, le plus souvent assez lâche et très proéminent (2 à 2,5 μ de haut), à alvéoles penta- ou hexagonales larges de 3 à 5 μ (5 à 6 alvéoles dans un diamètre), plus rarement dense et peu proéminent (0,5 à 1 μ de haut) et à alvéoles serrées, larges de 1 à 2 μ (jusqu'à 12 alvéoles dans un diamètre), mesurent ***20-22*** (17-25) × ***18-20*** (15-22), en moyenne **21,1 × 19,6** μ ; elles sont accompagnées de cellules stériles peu nombreuses, globuleuses à ovoïdes, hyalines, à membrane très mince (0,5 à 0,8 μ), mesurant **12-20 × 11-18** μ.

Sur les espèces de la section *Vulpia* du genre *Festuca*, six espèces ovaricoles de *Tilletia* et deux variétés ont été à ce jour décrites; il s'agit, par ordre chronologique, de :

1° *T. fusca* ELL. et EV. 1887 (*Journ. Myc.* 3, 55), essentiellement connu, aux États-Unis, sur *Festuca microtachys* NUTT. (type), sur *F. dertonensis* (All.) Asch. et Graebn., *megalura* NUTT., *octoflora* WALT. et *pacifica* PIPER; G. L. ZUNDEL (1953) adjoint à cette liste *Festuca bromoides* L. et *myuros* L. en Australie et G. W. FISCHER (1953) ajoute même *Bromus marginatus* NEES et *Poa reflexa* aux États-Unis.

2° *T. vulpiae* P. MAGN. 1899 (*Vehr. Zool. Bot. Ges. Wien*, 49, 89) sur *Vulpia pseudo-myuros* REICHB. provenant du mont Kuh-Sefin, 900 mètres alt., au Kurdistan. A cette espèce, dont la diagnose originale est assez imprécise, ont été rapportées une récolte sur *Vulpia myuros* faite en Italie, « Littorale di Magnavacca, Ferrara » (SACCARDO, 1909), une autre faite en Crimée, près de Yalta, sur *Vulpia ciliata* LINK (GUTNER, 1941) et, récemment, sur *V. myuros* une troisième récolte provenant des Canaries (J. URRIES, 1957).

3° *T. vulpiae* f. *myuri* GZ. FRAG. 1917 (*Bol. Real. Soc. Esp. Hist. Nat.*, 17, 80) sur *Vulpia myuros*, au Maroc, mont Gurugu, près de Melilla; à cette forme, a été rattachée une récolte faite par M. MARTINEZ sur le même hôte, en Espagne, près El Pardo Madrid, et déterminée par L. UNAMUNO.

4° *T. narduri* NAGORNY 1920 (non UNAMUNO, 1933) sur *Vulpia persica* KRECZ. et BOBR. (*Nardurus persicus* BOISS. et BUHSE) en U.R.S.S., espèce rattachée par GUTNER (1941) à *T. fusca*.

5° *T. fahrendorfii* V.B. 1938 (*Rev. Path. Vég. Ent. Agr. Fr.*, 25, 2, 156) sur *Vulpia bromoides* DUMONT. et sa var. *genuina* P. COUT. dans l'île de Madère.

6° *T. de camarae* UNAM. 1940 (*Rev. Maurit. Tanger*, 148-149, 8) sur *Festuca* (*Avellinia*) *michelii* BERT. au Maroc.

7° *T. fusca* var. *patagonica* HIRSCH. 1942 (*Rev. Mus. La Plata* n. s. *Bot.* 5, 8) sur *Festuca bromoides* L. en Argentine.

8° *T. festuca-octoflorana* ZUNDEL 1942 (*Mycol.*, 34, 126) sur *Festuca octoflora* WALT. aux États-Unis. Cette dernière espèce, bien différente des espèces précédentes par ses spores échinulées et non réticulées, est citée pour mémoire et n'entre pas ici en ligne de compte.

Le tableau ci-après montre la manière dont ont été déterminées à ce jour les caries à spores réticulées intéressant les diverses espèces de *Festuca* ou *Vulpia:*

FESTUCA ou VULPIA	*Tilletia* 1	2	3	4	5	6	7
bromoides	+				+		+
ciliata		+					
dertonensis	-						
megalura	-						
michelii							
microstachys							
myuros	-						
octoflora	+						
pacifica	+						
persica				+			
pseudo-myuros							

Nous avons éprouvé un grand embarras lorsque nous avons voulu donner un nom à notre carie de *Vulpia geniculata* (*matrix nova*), devant les imprécisions de certaines diagnoses originales ou les contradictions relevées dans la littérature quant à l'interprétation de ces différentes espèces.

Dans le but de nous faire une opinion personnelle, nous avons examiné plusieurs échantillons de ces divers parasites et nous devons remercier particulièrement M. le Docteur URRIES de Madrid et M. le Professeur G. VIENNOT-BOURGIN qui, avec leur obligeance habituelle, ont bien voulu nous aider dans notre travail.

Le tableau suivant rend compte des diagnoses originales, des descriptions données par les auteurs et de nos propres observations.

Ce tableau montre l'existence de deux groupes bien tranchés par une coupure d'au moins 2,5 μ dans les dimensions moyennes des spores.

L'un, à spores petites, 15-21 × 13-19 μ (en moyenne **18-19** × **16-17** μ et à épispore assez mince (1-2 μ), correspond à *Tilletia vulpiae* P. MAGN. qui est ainsi connu sur *V. pseudo-myuros* au Kurdistan, sur *V. myuros* en Italie et en Espagne (*sub nom. T. vulpiae* f. *myuri* pour ce dernier pays) et sur *V. ciliata* en Crimée, espèces de graminées très voisines les unes des autres sinon synonymes. L'autre groupe comprend plusieurs espèces (*T. vulpiae* f. *myuri* type, *T. fusca* et sa var. *patagonica*, *T. fahrendorfii* et *T. de camarae*) formant, quant aux dimensions des spores, une série continue qu'il semble difficile de scinder, d'autant que l'ornementation, la couleur, l'aspect de l'épispore sont sensiblement identiques pour ces différentes espèces.

	Tilletia sub nom.	DIMENSIONS DES SPORES (en µ)	MOYENNES (en µ)	ÉPISPORE (en µ)	COLORATION
		T. vulpiae			
A	*vulpiae* (D.O.)	19 × 17			Noires.
B	*vulpiae* (selon Ciferri)	15-18 × 13-16		2	Subhyalines à faiblement jaunâtres.
C	*vulpiae* (N.M.)	17-19 (16-21) 16-18 (15-19)	18,3 × 16,8	1-1,5	Flavescentes à brun châtain.
D	*vulpiae* f. *myuri* (N.M.)	17-20 (16-21) 16-18 (15-18)	18,6 × 16,7	1,5-2	Châtain pâle à brun châtain.
		T. fusca			
E	*fusca* (D.O.)	19-22			Brun rougeâtre.
F	*fusca* (selon Zundel)	20-25			Brun jaunâtre à
G	*fusca* (selon Fischer)	21-27			Brun rougeâtre.
H	*fusca* (N.M.)	20-22 (17-25) 18-20 (15-22)	21,1 × 19,6	2-2,5	Châtain pâle à brun châtain foncé.
I	*fusca* (N.M.)	21-22 (20-23) · 20-21 (19-22)	21,4 × 20,1	1,5-2,5	Châtain pâle à brun châtain foncé.
J	*vulpiae* f. *myuri* (D.O.)	17-21 × 16-19			Noir pourpré.
K	*vulpiae* f. *myuri* (N.M.) (type)	21-24 (20-28) × 20-21 (19-22)	22,6 × 20,3	1,5-3	Châtain pâle à brun châtain foncé.
L	*fusca* var. *patagonica* (D.O.)	21-23			Brun doré.
M	*fahrendorfii* (N.M.) (type)	22-25 (20-27) × 20-22 (19-23)	23,4 × 21,8	1,5-2,5	Châtain pâle à brun châtain foncé.
N	*fahrendorfii* (D.O.)	22-26 (21-27) · 21-24 (20-26)	24,1 × 22,2		Brun olivacé pâle.
O	*de camarae* (D.O.)	23-27 × 19-24			Brun violacé.
P	*fusca* (N.M.)	24-26 (23-30) × 23-25 (22-28)	25,2 × 24,1	1,5-2,5	Châtain pâle à brun châtain foncé.

Légendes. — D.O. : Diagnose originale; N.M. : Nos mensurations.

A) *T. vulpiae* magn., sur *V. pseudo-myuros*, Kurdistan : Kuh Sefin, 900 m alt., J. Bornmüller.

B) *T. vulpiae* magn., sur *V. myuros*, Italie : Littorale di Magnavacca (Ferrara).

C) *T. vulpiae* magn., sur *V. myuros*, pr. El Lenticel (Grande Canarie), 10 mars 1954, J. Urries (*Herb. J. Bot. Madrid*, Fgi nº 12 893).

D) *T. vulpiae* f. *myuri* frag., sur *V. myuros*, Espagne : pr. El Pardo (Madrid), 30 mai 1936; *leg.* Martinez, *det.* Unamuno.

E, F, G) *T. fusca*, diagnoses diverses.

H) *T. fusca* ell. et ev., sur *Vulpia geniculata*, Maroc : cédraie du Seheb (Moyen Atlas), 3 juillet 1955, J. Vindt.

A quel *Tilletia* faut-il rattacher notre carie de *V. geniculata* qui se situe à la limite inférieure de cette dernière série? A *Tilletia fusca* sans doute, mais l'examen de deux échantillons authentiques de *T. fusca* a montré que cette espèce possédait une amplitude de variation qui englobait toute la série.

C'est pour ces raisons que nous pensons raisonnable de regrouper sous le vocable de *T. fusca*, à spores notablement plus grandes que celles de *T. vulpiae*, 17-30 × 15-28 μ (en moyenne **21-25 × 19-24** μ), à épispore un peu plus épais aussi (1,5-3 μ), les caries de *Vulpia bromoides* d'Australie, d'Argentine (*sub nom. T. fusca* var. *patagonica*) et de l'île de Madère (*sub nom. T. fahrendorfii*), de *F. dertonensis*, *megalura*, *microstachys*, *octoflora* et *pacifica* des États-Unis, de *V. geniculata*, *V. myuros* (*sub nom. T. vulpiae* f. *myuri*) et de *F. michelii* (*sub nom. T. de camarae*) du Maroc, enfin de *V. persica* (*sub nom. T. narduri* NAGORNY, non UNAMUNO) d'U.R.S.S., sans préjuger de l'éventualité qu'une certaine spécialisation parasitaire, qui reste à démontrer, puisse permettre de justifier dans une certaine mesure les espèces antérieurement décrites.

Tuburcinia tritici (KÖRN.) LIRO.

Sur feuilles et gaines de *Triticum durum* L., Algérie : Sidi Yaya, près Cherchell, 200 mètres alt., 14 mai 1959, G. GRANDJOUAN.

Glomérules mesurant 21-36 × 17-27 μ, à 1-3 spores centrales brun olivâtre foncé, mesurant 14-19 × 12-16 μ, entourées de cellules stériles jaunâtres, nombreuses, mesurant 5-12 × 3-5,5 μ.

Ustilago bromivora (TUL.) F. VON WALDH.

— Dans les ovaires de *Bromus fasciculatus* PRESL., Espagne méridionale : en lisière inférieure du Pinsapar de Ronda, 1 200-1 300 mètres alt., 28 août 1958, L. GUYOT.

Spores globuleuses à ovoïdes, brun châtain, assez densément

I) *T. fusca* ELL. et EV., sur *Festuca octoflora*, U.S.A. : Washington, Othello, 18 juin 1945, G. W. FISCHER et A. G. LAW (*Gram. Sm. N. Am.*, 1, nº 60).

J, K) *T. vulpiae* f. *myuri* FRAG. sur *Vulpia myuros*, Maroc : mont Gurugu, près Melilla, 3 juin 1915, *leg.* CABALLERO (type).

L) *T. fusca* var. *patagonica* HIRSCHH., sur *Festuca bromoides*, Argentine : Neuquen, Villa Alumine (Patagonie).

M, N) *T. fahrendorfii* V. B., sur *Vulpia bromoides* et *V. bromoides* var. *genuina* (type), Madère : pentes du pic Arriero et du pic Ruivo, 1 950-2 000 m alt., août 1936, *leg.* G. VIENNOT-BOURGIN.

O) *T. decamarae* UNAM., sur *Festuca* (*Avellinia*) *michelii*, Maroc : Sok-et-Tuin (Beni Hadifa).

P) *T. fusca* ELL. et EV. sur *Festuca pacifica*, U.S.A. : Washington, Othello, 18 juin 1945, G. W. FISCHER et A. G. LAW (*Gram. Sm. N. Am.* I, nº 62).

verruculeuses, mesurant 6,5-10 (→ 12) × 6-8 (→ 9), en moyenne 7,9 × 7,1 μ.

— Dans les ovaires de *Bromus fasciculatus* PRESL., Espagne méridionale : Puerto de la Mora, sur la route Grenade-Guadix, 1 430 mètres alt., 7 septembre 1958, L. GUYOT.

Dimensions des spores : 6-11 × 5,5-8, en moyenne **8,6 × 7,2** μ.

— Dans les ovaires de *Bromus madritensis* L., Espagne méridionale : Sierra Palmitera, entre Ronda et la mer, 1 000 mètres alt., 12 août 1958, L. GUYOT et Sierra Blanca, entre Ronda et Ojen, 1 000 mètres alt., 22 août 1958, L. GUYOT.

Spores mesurant 6,5-8 (→ 11) × 6-8, en moyenne **7,8 × 7,1** μ.

Ustilago ornithogali (SCHMIDT et KUNZE) MAGN.

Sur les feuilles de *Gagea wilczekii* BR. BL. et MAIRE (*det.* NÈGRE), Maroc : Bou Ighitten (Moyen Atlas), 2 100 mètres alt., 12 avril 1958, G. GRANDJOUAN et G. MALENÇON.

Les sores foliaires, d'abord pustuleux et couverts par l'épiderme puis profondément éclatés, sont longs de 2 à 10 mm.

Les spores, de formes très irrégulières et variées, brun olivâtres, lisses, mesurent 12-26 × 10-16 μ ; la membrane, généralement épaisse de 1,5 à 2,5 μ, peut parfois présenter des épaississements allant jusqu'à 6 μ.

Le parasite est connu dans la plus grande partie de l'Europe jusqu'en U.R.S.S. sur diverses espèces de *Gagea ;* il a été également signalé en Palestine et au Japon.

Au Maroc, *U. ornithogali* est cité par MAIRE et WERNER, 1937 sur *G. dutoitii* MAIRE et WILCZEK, à Igherm, dans l'Anti-Atlas, et sur *G. fistulosa* (RAM.) KER GAWL. ssp. *liotardi* (STERNB.) MAIRE var. *dyris* MAIRE, au Tizi n' Tachdirt, à 3 200 mètres d'altitude, dans le Haut Atlas. Nous avons, d'autre part, déjà signalé le champignon sur *Gagea* sp., à Aïn-Leuh, dans le Moyen Atlas (1).

G. wilczekii, qui est une endémique marocaine, semble être un hôte nouveau pour *U. ornithogali.*

SUMMARY

As a continuation of further studies, eleven records of Ustilaginales from Spain and North Africa are reported in this note.

Among these eleven records, particular attention must be payed to some uncommon species like *Entyloma brizae* and *Tilletia fusca* (concerning this latter species, a short revision of *Vulpia* bunts is made) and to a new species of *Entyloma, Entyloma vulpiae*, on *Vulpia geniculata.*

(*Laboratoire de Botanique, E.N.A. Grignon, France ; Institut scientifique chérifien, Rabat, Maroc*).

(1) L. GUYOT, G. MALENÇON et M. MASSENOT, 1955 (*l. c.*).

NOTE PRÉLIMINAIRE SUR LA BIOLOGIE DE *SUILLIA LURIDA* MEIG. *(Dipt. Helomyzidae)*

PAR

J. D'AGUILAR

La famille des *Helomyzidae* se coupe naturellement en deux grands groupes : *Suillinae* et *Helomyzinae*. Or sur le plan éthologique d'après les éléments connus, on pensait que les larves d'*Helomyzinae* vivaient sur des matières organiques en décomposition (tels que végétaux décomposés, excréments, etc.) tandis que les *Suillinae* se développaient à l'état larvaire dans des champignons supérieurs.

De fait on connaît un certain nombre d'espèces du genre *Suillia* (= *Helomyza sens.* COLLIN, 1943) qui recherchent les Truffes (*Tuber melanosporum* VITT.) en particulier *S. fuscicornis* ZETT.; *S. gigantea* MEIG.; *S. humilis* MEIG.; *S. notata* MEIG.; *S. pallida* FALL.; *S. tuberiperda* ROND.; *S. ustulata* MEIG.

D'autres espèces ont été obtenues de larves se développant dans les carpophores de divers Basidiomymètes.

L'attraction des adultes a été observée par PARMENTER (1947) qui a noté que ce sont surtout les mâles qui se groupent sur les Champignons.

Cette attraction est utilisée sur le plan pratique. On sait en particulier que le groupement des imagos de *Suillia* dans les truffières aide à découvrir ces champignons souterrains.

En 1959 et en 1960 nous avons reçu du Puy-de-Dôme, du Vaucluse et des Basses-Alpes (1) des échantillons d'*Allium* cultivés (Poireau, Ail) contenant des larves d'un Diptère *Helomyzidae*.

L'élevage réussit en 1960 et donna des imagos de : *Suillia lurida* MEIG.

Les dégâts sur Poireau et Ail peuvent être confondus avec ceux *d'Acrolepia assectella* et surtout de *Phorbia* (*Delia*) *antiqua* MG.

(1) Nous devons particulièrement remercier M. CHAFFARD du Centre de recherches de la Dargoire ainsi que M. DENIZET, inspecteur de la Protection des végétaux pour les informations communiquées.

REVUE DE PATHOLOGIE VÉGÉTALE
ET D'ENTOMOLOGIE AGRICOLE DE FRANCE
T. XXXIX - N° 3 - JUILLET-SEPTEMBRE 1960

Les plantes attaquées se reconnaissent à la présence d'un petit trou au niveau du collet, de morsures sur les jeunes feuilles.

A l'intérieur de la tige une larve solitaire vit en mineuse entraînant par la suite la décomposition des tissus.

A notre connaissance, de tels dégâts de *Suillia lurida* MG n'avaient pas encore été signalés. Seules deux indications appuient ces observations : L. CZERNY (1927) indique qu'il a capturé l'adulte sur *Allium porrum* L. en janvier et W. HENNING (1952) a vu un échantillon du musée de Berlin-Dalhem étiquetté « éclot d'Oignon ».

BIBLIOGRAPHIE

ANDREWS H. W. — 1945. *Helomyza variegata* breeding in roots of Sea-Aster. — *Ent. Rec.*, **57**, 32-33.

COLLIN J. E. — 1943. The British spp. of *Helomyzidae*. — *Ent. Month. Mag.* **79**, 234-251.

CZERNY L. — 1927. *Helomyzidae* in LINDNER (E.). Die Fligen des palaearktischen région, p. 1.

HENNING W. — 1952. Die Larven formen der Dipteren, **3**, 255.

PARMENTER L. — 1947. Notes on the *Helomyzidae*. — *Ent. Rec.*, **59**, 15-17.

SEGUY E. — 1934. Diptères *Acalypterae* et *Scatophagidae in* Faune de France, **28**, 317-328.

(*I.N.R.A. — Laboratoire de Faunistique Agricole.*)

ÉDITIONS DU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

I. PUBLICATIONS PÉRIODIQUES

BULLETIN SIGNALÉTIQUE

Le Centre de Documentation du C.N.R.S. publie un **Bulletin Signalétique** dans lequel sont signalés, par de courts extraits classés par matières, tous les travaux scientifiques, techniques et philosophiques, publiés dans le monde entier.

Abonnement annuel (y compris table générale des auteurs).

Deuxième partie (biologie, physiologie, zoologie, agriculture).

FRANCE ..... 100 NF
ÉTRANGER ..... 120 —

Tirages à part : Deuxième partie :

Section XI. — Biologie animale, génétique, biologie végétale.

FRANCE ..... 51 NF
ÉTRANGER ..... 55 —

Section XII. — Agriculture, aliments et industries alimentaires.

FRANCE ..... 16 NF
ÉTRANGER ..... 20 —

Abonnement au Centre de Documentation du C.N.R.S., 16, rue Pierre-Curie, Paris (V^e^). C.C.P. Paris 9131-62. Tél. DANton 87-20.

ARCHIVES DE ZOOLOGIE EXPÉRIMENTALE

(Directeur L. CHOPARD)

Revue trimestrielle. — Prix de l'abonnement :

FRANCE ..... 45 NF
ÉTRANGER ..... 50 —

N.B. — Les Presses de la Cité, 116, rue du Bac, Paris (VI^e^) reçoivent les abonnements et effectuent toutes les ventes par volumes ou fascicules isolés.

JOURNAL DES RECHERCHES DU C.N.R.S.

(Directeur ROSE)

Revue trimestrielle publiant des articles de recherches faites dans les différents laboratoires du C.N.R.S.

Abonnement d'un an (4 numéros) :

FRANCE ..... 8 NF
ÉTRANGER ..... 10 —

Prix du numéro :

FRANCE 2,20NF
ÉTRANGER ..... 2,75 —

Vente aux Laboratoires de Bellevue, 1, place Aristide-Briand, BELLEVUE.

II. OUVRAGES

Franklin PIERRE :

Écologie et Peuplement Entomologique du Sahara Nord-Occidental.

Un volume in-8 raisin, de 332 pages et 16 planches - Relié pleine toile jaune 32 NF

III. COLLOQUES INTERNATIONAUX

XXXIII. **Écologie** ..... 27 NF
XXXIV. **Structure et physiologie des Sociétés animales** ..... 25 —

RENSEIGNEMENTS ET VENTE AU SERVICE DES PUBLICATIONS DU C. N. R. S.

13, quai Anatole-France, PARIS-VII^e^ — C.C.P. Paris 9061-11 — Tél. : INV. 45-95

ACHEVÉ D'IMPRIMER
SUR LES PRESSES DE
L'IMPRIMERIE NOUVELLE
53, QUAI DE LA SEINE, PARIS
LE 31 AOUT 1960

N° : 428 - 1960

LE FRANÇOIS — PARIS
(C. O. L. 15-0217)

Le Gérant : G. HANNEBICQUE. Dépôt légal : 1960/3e, N° 144 P.